LÊ VĂN KHOA (chủ biên)
NGUYỄN XUÂN CỰ - BÙI THỊ NGỌC DUNG
LÊ ĐỨC - TRẦN KHẮC HIỆP - CÁI VĂN TRANH

PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH
ĐẤT NƯỚC PHÂN BÓN CÂY TRỒNG



NHÀ XUẤT BẢN GIÁO DỤC

LÊ VĂN KHOA (chủ biên)
NGUYỄN XUÂN CỰ - BÙI THỊ NGỌC DUNG - LÊ ĐỨC
TRẦN KHẮP HIỆP - CÁI VĂN TRANH

PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH
ĐẤT
NƯỚC
PHÂN BÓN
CÂY TRỒNG

(Tái bản lần thứ hai)

NHÀ XUẤT BẢN GIÁO DỤC

LỜI NÓI ĐẦU

Thể theo yêu cầu và nguyện vọng của đông đảo bạn đọc, thầy giáo và sinh viên ở nhiều trường đại học, chúng tôi chỉnh lí bổ sung và tái bản cuốn sách "Phương pháp phân tích đất – nước – phân bón – cây trồng" đã được NXB Giáo dục xuất bản lần đầu tiên vào năm 1996. Cuốn sách cung cấp tới bạn đọc các phương pháp phân tích thường được sử dụng rộng rãi trong các phòng thí nghiệm ở Việt Nam và thế giới.

Sách không chỉ là tài liệu học tập cho sinh viên các chuyên ngành sinh học, các nhà khoa học Trái đất, môi trường, nông lâm nghiệp, mà còn là tài liệu tham khảo cho các cán bộ nghiên cứu khoa học thuộc các chuyên ngành trên ở các trường, các viện nghiên cứu, các sở NN và PTNT, sở KHCN và MT.

Cuốn sách lần thứ hai ra mắt bạn đọc, nhưng chắc chắn không thể tránh khỏi một số thiếu sót. Các tác giả xin chân thành cảm ơn những ý kiến đóng góp xây dựng của các độc giả.

Ý kiến đóng góp xin gửi về Nhà xuất bản Giáo dục, 81 Trần Hưng Đạo, Hà Nội.

CÁC TÁC GIẢ

PHẦN I

PHÂN TÍCH ĐẤT

Chương I

CHUẨN BỊ MẪU ĐẤT

Chuẩn bị mẫu là khâu cơ bản, quan trọng đầu tiên trong phân tích đất. Hai yêu cầu chủ yếu của công tác chuẩn bị mẫu là :

- Mẫu phải có tính đại diện cao cho vùng nghiên cứu.

- Mẫu phải được nghiền nhỏ đến độ mịn thích hợp tùy thuộc vào yêu cầu phân tích.

1. Lấy mẫu phân tích

Tùy thuộc vào mục đích nghiên cứu mà lựa chọn cách lấy mẫu thích hợp. Thông thường có một số cách lấy mẫu như sau : lấy mẫu theo tầng phát sinh, lấy mẫu riêng biệt hoặc hỗn hợp, lấy mẫu nguyên trạng thái tự nhiên không phá hủy cấu tạo của đất.

Lấy mẫu đất theo tầng phát sinh. Khi nghiên cứu đất về phát sinh học hoặc nghiên cứu tính chất vật lí, tính chất nước của đất thì tiến hành lấy mẫu như sau :

- *Đào phẫu diện đất* : Chọn điểm đào phẫu diện phải đại diện cho toàn vùng cần lấy mẫu nghiên cứu. Phẫu diện thường rộng 1,2m, dài 1,5m, sâu đến tầng đá mẹ hoặc sâu 1,5 – 2m ở những nơi có tầng đất dày. Mô tả đặc trưng hình thái phẫu diện và chia tầng phát sinh khác nhau.

- *Lấy mẫu đất* : Lần lượt lấy mẫu đất từ tầng phát sinh dưới cùng lên đến tầng mặt. Mỗi tầng, mẫu đất được đựng trong 1 túi riêng, có ghi nhãn rõ ràng. Lượng đất lấy từ 0,5 đến 1 kg là vừa.

Đối với tầng cuối cùng (sâu nhất) thì lấy mẫu ở phần giáp với đáy phẫu diện, tầng mặt (tầng canh tác) lấy dọc suốt cả tầng đến cách đường phân tầng 2 – 3cm, các tầng khác lấy ở giữa tầng phát sinh với độ dày 10cm. Với những tầng phát sinh quá dày thì lấy ở 2 hoặc 3 điểm (mỗi điểm lấy với độ dày 10cm) rồi gộp lại ; còn với tầng phát sinh mỏng (có thể nhỏ hơn 10cm) thì lấy bề dày cả tầng (cách đường

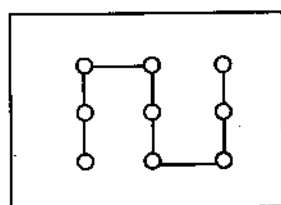
ranh giới trên và dưới khoảng 2cm). Đối với tầng tích tụ của đất mặn thì chọn vị trí lấy mẫu ở chỗ chặt nhất của tầng này.

Mỗi mẫu đất đều được ghi phiếu chỉ rõ : số phẫu diện, tầng (độ sâu lấy mẫu – cm), địa điểm lấy mẫu, ngày lấy mẫu và người lấy mẫu.

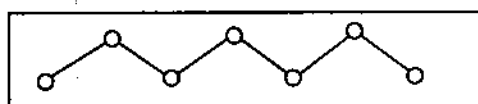
– *Lấy mẫu hỗn hợp*. Nguyên tắc của lấy mẫu hỗn hợp là lấy các mẫu riêng biệt ở nhiều điểm khác nhau rồi hỗn hợp lại, lấy mẫu trung bình. Thông thường lấy từ 5 – 10 điểm rồi hỗn hợp lại để lấy mẫu trung bình (mẫu hỗn hợp). Khi lấy mẫu ở các điểm riêng biệt cần tránh các vị trí cá biệt không đại diện như : chỗ bón phân hoặc vôi tụ lại, chỗ cây quá tốt hoặc quá xấu, chỗ cây bị sâu bệnh...

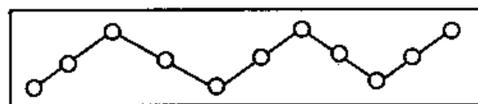
Mẫu hỗn hợp thường được lấy trong những nghiên cứu về nông hóa học, nghiên cứu động thái các chất dinh dưỡng của đất hoặc lấy ở các ruộng thí nghiệm. Mẫu đất hỗn hợp được lấy như sau :

+ *Lấy các mẫu riêng biệt* : Tùy theo hình dáng khu đất cần lấy mẫu mà bố trí các điểm lấy mẫu (5 – 10 điểm) phân bố đồng đều trên toàn diện tích. Có thể áp dụng cách lấy mẫu theo đường chéo hoặc đường thẳng góc (hình 1a và 1b) với địa hình vuông gọn, hoặc theo đường gấp khúc hoặc nhiều đường chéo (hình 1c và 1d) với địa hình dài. Mỗi điểm lấy khoảng 200 gam đất bỏ dồn vào 1 túi lớn.

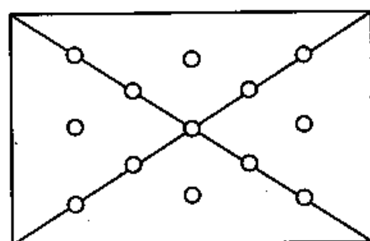


b)

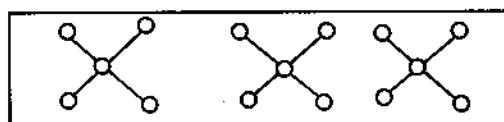




c)

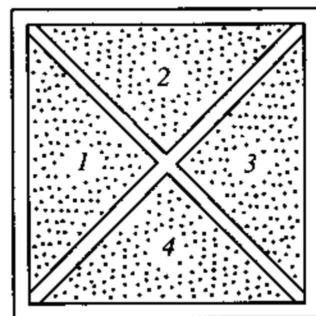


a)



d)

Hình 1 – Sơ đồ bố trí lấy mẫu riêng biệt



Hình 2 – Sơ đồ lấy mẫu hỗn hợp

+ *Trộn mẫu và lấy mẫu hỗn hợp* : Các mẫu riêng biệt được băm nhỏ và trộn đều trên giấy hoặc nilon (chú ý trộn càng đều càng tốt). Sau đó dàn mỏng rồi chia làm 4 phần theo đường chéo, lấy 2 phần đối diện nhau trộn lại được mẫu hỗn hợp (hình 2).

Lấy phần 1 và 3, bỏ 2 và 4 hoặc lấy 2 và 4 bỏ 1 và 3.

Lượng đất của mẫu hỗn hợp lấy khoảng 0,5 – 1kg, cho vào túi vải, ghi phiếu mẫu như nội dung ghi cho phiếu mẫu ở trên, ghi bằng bút chì đen để tránh nhòe, nhất là đất ướt (có thể bỏ phiếu mẫu trong 1 túi nilon nhỏ, gập gọn lại rồi cho vào túi mẫu).

2. Phơi khô mẫu

Trừ một số trường hợp phải phân tích trong đất tươi như xác định hàm lượng nước, một số chất dễ biến đổi khi đất khô như NH_4^+ , NO_3^- , Fe^{2+} , Fe^{3+} ... ; còn hầu hết các chỉ tiêu khác đều được xác định trong đất khô.

Mẫu đất lấy từ đồng ruộng về phải được hong khô kịp thời, băm nhỏ (cỡ 1 – 1,5cm), nhặt sạch các xác thực vật, sỏi đá... sau đó dàn mỏng trên bản gỗ hoặc giấy sạch rồi phơi khô trong nhà. Nơi hong mẫu phải thoáng gió và không có các hóa chất bay hơi như NH_3, Cl_2, SO_2,... Để tăng cường quá trình làm khô đất có thể lật đều mẫu đất. Thời gian hong khô đất có thể kéo dài vài ngày tùy thuộc loại đất và điều kiện khí hậu. Thông thường đất cát sẽ chóng khô hơn đất sét.

Cần chú ý là mẫu đất được hong khô trong không khí là tốt nhất. Không nên phơi khô ngoài nắng hoặc sấy khô trong tủ sấy.

Mẫu phân tích tươi : Trong phân tích đất, một số chỉ tiêu bắt buộc phải phân tích ngay trong mẫu mới được lấy (mẫu tươi) như : điện thế oxi hóa khử, hàm lượng sắt hai, amoni, sunphua,... vì hàm lượng các chất này sẽ thay đổi trong quá trình phơi khô mẫu.

Mẫu đất mới lấy về trộn đều rồi đem phân tích ngay. Đồng thời cân 5 gam đất này đem sấy khô để xác định hàm lượng nước, phục vụ cho việc chuyển kết quả phân tích từ đất tươi sang đất khô kiệt.

3. Nghiền và rây mẫu

Đất sau khi đã hong khô, đập nhỏ rồi nhặt hết xác thực vật và các chất lẫn khác. Dùng phương pháp ô chéo góc lấy khoảng 500 gam đem nghiền, phần còn lại cho vào túi vải cũ giữ đến khi phân tích xong.

Trước hết giã phần đất đem nghiền trong cối sứ, rồi rây qua rây 2 mm. Phần sỏi đá có kích thước lớn hơn 2 mm được cân khối lượng rồi đổ đi (không tính vào thành phần của đất). Lượng đất đã qua rây được chia đôi, một nửa dùng để phân tích thành phần cơ giới, nửa còn lại tiếp tục nghiền nhỏ bằng cối sứ (cối đồng hoặc máy nghiền mẫu) rồi rây qua rây 1 mm (phải giã và cho qua rây toàn bộ lượng đất này). Đất đã qua rây 1 mm được đựng trong lọ thủy tinh nút nhám rộng miệng hoặc trong hộp giấy bằng bìa cứng, có ghi nhãn cẩn thận dùng để phân tích các thành phần hóa học thông thường. Nếu cần phân tích tổng thành phần khoáng, mùn, nitơ tổng số thì lấy khoảng 50 gam đất đã qua rây 1 mm, tiếp tục nhặt hết các xác thực vật (dùng kính lúp phóng đại, hoặc đũa thủy tinh xát nóng bằng miếng dạ rồi rà trên lớp đất rải mỏng để hút hết rễ cây nhỏ), sau đó nghiền nhỏ và cho qua rây 0,25mm. Gói đất này bằng giấy dầu (hoặc giấy can) rồi bỏ chung vào hộp đựng đất trên.

4. Xác định lượng nước trong đất và hệ số khô kiệt (k)

Thông thường mẫu đem phân tích ở 2 dạng :

Mẫu đất hong khô trong không khí : Với đất này, lượng nước xác định chính là lượng nước hút ẩm không khí của nó. Phần lớn các chỉ tiêu hóa học tổng số cũng như dễ tiêu được xác định trên đất hong khô không khí.

Mẫu đất tươi mới lấy về : Với loại mẫu này lượng nước xác định chính là độ ẩm hiện tại của đất. Thông thường mẫu đất tươi dùng để phân tích các chỉ tiêu và thành phần dễ biến đổi theo các điều kiện oxi hóa - khử như : Fe^{2+} , NH_4^+, NO_3^-, H_2S, thế oxi hóa - khử, hoặc hoạt động của vi sinh vật đất.

– *Nguyên lí phương pháp* : Mẫu đất mới lấy từ đồng ruộng về, ngoài lượng nước hút ẩm ra còn chứa những dạng nước khác nhau tùy thuộc vào trạng thái đất nơi lấy mẫu. Song với đất đã hong khô không khí thì chỉ còn nước hút ẩm không khí.

Để xác định lượng nước này, thường dùng phương pháp sấy khô ở 105° - 110°C. Khi đó toàn bộ nước hút ẩm bị bay hơi hết mà chất hữu cơ chưa bị phân hủy. Tuy nhiên ở các đất có hàm lượng chất hữu cơ cao thường khó đạt tới khối lượng không đổi sau khi sấy, nên thường sấy mẫu ở 105°C trong thời gian quy định. Đặc biệt khi hàm lượng hữu cơ quá cao có thể áp dụng phương pháp sấy áp suất thấp như sấy ở nhiệt độ 70° - 80°C, áp suất 20 mmHg.

Dựa vào khối lượng giảm sau khi sấy ta tính được lượng nước của đất.

– *Trình tự phân tích :*

Xác định lượng nước hút ẩm không khí của đất

Sấy cốc cân bằng thủy tinh (hoặc hộp nhôm) ở 105°C đến khối lượng không đổi. Cho cốc vào bình hút ẩm, để ở nhiệt độ trong phòng. Cân chính xác khối lượng cốc bằng cân phân tích (W_1).

Cho vào cốc 10 gam đất đã hong khô không khí và đã rây qua rây 1mm. Cân khối lượng cốc sấy và đất (W_2).

Cho vào tủ sấy ở 105° - 110°C trong 8 giờ rồi lấy ra cho vào bình hút ẩm để hạ nhiệt độ tới nhiệt độ trong phòng (thông thường với cốc cân thủy tinh thì để 30 phút, hộp nhôm 20 phút là được).

Chú ý : Trong khi sấy phải đặt nghiêng nắp cốc cân để hơi nước thoát ra, nếu là hộp nhôm thì đậy nắp dưới đáy hộp.

Cân khối lượng cốc (hoặc hộp) và đất sau khi sấy (W_3), làm lặp lại đến khi khối lượng (W_3) không đổi (sai số không vượt quá 3 mg giữa 2 lần cân).

Xác định lượng nước của mẫu tươi : Mẫu đất lấy phải đựng trong hộp kín để tránh bay hơi. Cho vào cốc cân hoặc hộp nhôm đã biết trước khối lượng (W_1) 10 gam mẫu đất trên. Cân chính xác khối lượng cốc cân và đất tươi (W_2). Sấy khô ở 105°C như trên rồi cân khối lượng cốc cân và đất khô (W_3).

– *Tính kết quả :*

Lượng nước hút ẩm (%) với đất khô không khí, hay lượng nước của đất (%) với đất tươi là lượng nước tính trong 100g đất khô kiệt theo công thức :

$$\frac{W_2 - W_3}{W_3 - W_1} \times 100$$

Lượng nước (%) là lượng nước tính trong 100g đất đem phân tích (đất khô không khí hoặc đất tươi) :

$$\text{Lượng nước (\%)} = \frac{W_2 - W_3}{W_2 - W_1} \cdot 100$$

Hệ số nước k (hệ số khô kiệt) : $k = \dfrac{100}{100 - \text{lượng nước (\%)}}$

Khi muốn chuyển kết quả phân tích từ đất khô không khí (hoặc đất tươi) sang đất khô kiệt ta đem nhân kết quả với hệ số k tương ứng.

Chương 2

MỘT SỐ DUNG DỊCH THƯỜNG DÙNG TRONG PHÂN TÍCH ĐẤT

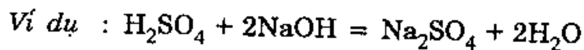
1. Nồng độ dung dịch

Có nhiều cách biểu diễn nồng độ dung dịch. Trong phân tích đất thường dùng các loại nồng độ sau :

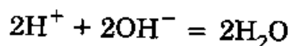
– *Nồng độ đương lượng (kí hiệu là N)* là số đương lượng gam chứa trong 1 lít dung dịch hay số mili đương lượng gam trong 1 ml dung dịch.

Ví dụ : Dung dịch 0,5N nghĩa là 1 lít dung dịch này chứa 0,5 đương lượng gam chất đã pha.

Đương lượng gam của một chất là một phần phân tử gam chất đó tương ứng với một điện tích hoạt động. Điện tích hoạt động trong phản ứng trao đổi tính theo số điện tích đã thực sự tham gia kết hợp với ion khác, còn trong phản ứng oxi hóa – khử thì tính theo số electron đã cho hoặc nhận.

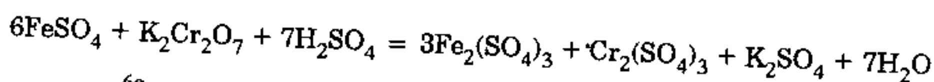


Ví dụ : $H_2SO_4 + 2NaOH = Na_2SO_4 + 2H_2O$

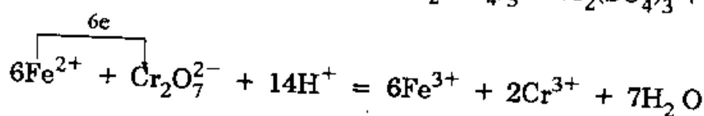


$2H^+ + 2OH^- = 2H_2O$

Trong phản ứng này H_2SO_4 có 2 điện tích tham gia trao đổi nên đương lượng gam của nó bằng 1/2 phân tử gam hay bằng $\frac{98,08}{2} = 49,04(g)$.



$$6FeSO_4 + K_2Cr_2O_7 + 7H_2SO_4 = 3Fe_2(SO_4)_3 + Cr_2(SO_4)_3 + K_2SO_4 + 7H_2O$$



$$6Fe^{2+} + Cr_2O_7^{2-} + 14H^+ = 6Fe^{3+} + 2Cr^{3+} + 7H_2O$$

(6e)

Ở đây có 6 electron tham gia phản ứng nên đương lượng gam của $K_2Cr_2O_7$ bằng 1/6 phân tử gam của nó, hay bằng :

$$\frac{294,22}{6} = 49,04 \text{ (g)}$$

Nồng độ đương lượng được dùng rất phổ biến trong phân tích đất. Đặc biệt là trong các phép chuẩn độ xác định các chất, vì các chất tác dụng với nhau theo đúng đương lượng của chúng, nên có thể áp dụng công thức tính :

$$V_1N_1 = V_2N_2$$

V_1,N_1 : thể tích và nồng độ dung dịch 1

V_2,N_2 : thể tích và nồng độ dung dịch 2

– *Nồng độ phần trăm khối lượng* (%) là số gam chất tan trong 100 gam dung dịch.

– *Nồng độ gam/lít (g/l)* là số gam chất tan trong 1 lít dung dịch.

– *Tỉ lệ pha loãng :* biểu thị mức độ pha loãng của một chất đậm đặc nào đó như axit sunfuaric đặc, amoniac đặc, axit clohiđric đặc.

Ví dụ : H_2SO_4 1 : 3 có nghĩa là dung dịch đã được pha 1 phần thể tích H_2SO_4 đặc với 3 phần thể tích nước.

2. Dung dịch chuẩn

Dung dịch chuẩn là các dung dịch có nồng độ chính xác được dùng để định lượng các chất, thường được biểu diễn dưới dạng nồng độ đương lượng (N). Trong phòng thí nghiệm nông hóa hay dùng các dung dịch tiêu chuẩn nồng độ sau : H_2SO_4 0,1N ; NaOH 0,1N ; $KMnO_4$ 0,1N ; $Na_2S_2O_3$ 0,1N ; $AgNO_3$ 0,02N ; trilon B 0,05N.

Từ dung dịch nồng độ 0,1N có thể pha thành các dung dịch nồng độ loãng hơn : 0,05N ; 0,02N ; 0,01N khi cần.

Để pha các dung dịch chuẩn 0,1N, trước hết cần pha gần đúng 0,1N (thường pha nồng độ cao hơn một chút rồi sau điều chỉnh để được nồng độ 0,1N), nồng độ chính xác sẽ được xác định lại bằng các chất gốc tương ứng.

Pha dung dịch có nồng độ 0,1N (gần đúng) như sau :

Dung dịch chuẩn		Lượng hóa chất để pha thành 1 lít dung dịch
H_2SO_4	0,1N	2,8 ml H_2SO_4 đặc (d = 1,84)
NaOH	0,1N	4,0 gam NaOH
$KMnO_4$	0,1N	3,16 gam, $KMnO_4$
$Na_2S_2O_3$	0,1N	21,8 gam $Na_2S_2O_3 . 5 H_2O$
$AgNO_3$	0,02N	3,40 gam $AgNO_3$
TrilonB	0,05N	9,305 gam EDTA (có thể pha chính xác)

Phần lớn các chất pha trên không thể căn cứ vào khối lượng đã lấy để tính ra nồng độ chính xác vì chúng có chứa tỉ lệ nước hút ẩm không ổn định, hoặc trong thành phần của chúng có lẫn các chất khác như NaOH, có thể chứa Na_2CO_3, $KMnO_4$ có chứa MnO_2, $Na_2S_2O_3$ bị oxi hóa 1 phần bởi không khí... Do vậy cần dùng các chất có thành phần ổn định gọi là các chất gốc để kiểm tra lại nồng độ của chúng. Các chất gốc thường dùng như $H_2C_2O_4$, $Na_2B_4O_7$,....

CÁC CHẤT GỐC ĐỂ KIỂM TRA NỒNG ĐỘ CÁC DUNG DỊCH TIÊU CHUẨN

Dung dịch tiêu chuẩn	Chất gốc	Số gam để pha thành 100 ml chất gốc 0,1N	Lấy 20ml chất gốc + các chỉ thị	Chuẩn độ đến
H_2SO_4 0,1N	natri tetraborat $Na_2B_4O_7.10H_2O$	1,910	metyl da cam	vàng sang đỏ nhạt
NaOH 0,1N	axit oxalic $H_2C_2O_4.2H_2O$	0,630	phenolphtalein	hồng nhạt
$KMnO_4$ 0,1N	axit oxalic $H_2C_2O_4.2H_2O$	0,630	15ml H_2SO_4 5N đun nóng 80°C	xuất hiện hồng nhạt
$Na_2S_2O_3$ 0,1N	kali bicromat $K_2Cr_2O_7$ (sấy khô ở 100°C)	0,490	15ml KI 10%, 3ml HCl đặc (d = 1,19), 150ml nước cất. Chuẩn đến màu vàng nhạt thì thêm 2ml tinh bột 0,5%	mất màu xanh
$AgNO_3$ 0,02N	natri clorua NaCl khan (sấy ở 120°C)	0,170	Cho vào bình tam giác 5ml NaCl 0,1N và khoảng 20ml nước, 1ml K_2CrO_4 10%	xuất hiện kết tủa màu đỏ gạch
Trilon B 0,05N	magie clorua ($MgCl_2$) khan (sấy ở 200°C)	0,476	5ml đệm amôn (pH = 10), 10 giọt chỉ thị cromogen đen 1%	từ đỏ sang xanh biển

Hiện nay các chất chuẩn thường được sản xuất sẵn chứa trong các ống thủy tinh hàn kín, có nồng độ chính xác như H_2SO_4, HCl, HNO_3, $KMnO_4$, $AgNO_3$, NaCl, KCl, $MgCl_2$, ... Khi dùng chỉ cần pha ống này thành 1 lít dung dịch bằng nước cất. Các ống chất chuẩn này được gọi là fixanan và thường có nồng độ 0,1N khi pha thành 1 lít.

Cách pha một số dung dịch chuẩn từ các hóa chất : xem trong phụ lục 12.

3. Pha loãng và điều chỉnh nồng độ dung dịch

– *Pha loãng nồng độ :* Trong phân tích, từ một dung dịch nồng độ cao hơn có thể pha loãng thành các dung dịch có nồng độ thấp cần thiết cho phép phân tích. Có thể thực hiện dễ dàng dựa vào công thức tính :

$$V_1N_1 = V_2N_2$$

Trong đó V_1, N_1 là thể tích và nồng độ dung dịch thứ nhất (dung dịch có sẵn). V_2, N_2 là thể tích và nồng độ dung dịch thứ 2 (dung dịch cần pha). *Ví dụ :* Cần

pha 1 lít (V_2) dung dịch H_2SO_4 0,05 N (N_2) từ dung dịch H_2SO_4 0,1N (N_1) thì lượng H_2SO_4 0,1N (V_1) cần lấy là :

$$V_1 = \frac{V_2 . N_2}{N_1} = \frac{1000\,(ml) . 0,05\,(N)}{0,1\,(N)} = 500\,ml$$

Như vậy cần lấy 500ml H_2SO_4 0,1N pha thành 1000ml bằng nước cất sẽ được dung dịch H_2SO_4 0,05N.

- *Điều chỉnh nồng độ :* Khi pha các dung dịch tiêu chuẩn từ một lượng của một chất nào đó (không phải chất gốc) thường chỉ cho nồng độ gần đúng. Muốn biết nồng độ chính xác cần dùng dung dịch chuẩn đã biết nồng độ để xác định lại (khi pha thường lấy cao hơn nồng độ cần thiết để dễ điều chỉnh bằng cách pha loãng).

Ví dụ : Muốn pha NaOH 0,1N, ta cân 4g NaOH pha thành 1 lít (thường lấy trên 4g để được nồng độ trên 0,1N). Dung dịch này cần kiểm tra nồng độ bằng chất gốc tiêu chuẩn $H_2C_2O_4$ 0,1N (hoặc H_2SO_4 0,1N tiêu chuẩn nếu có). Giả sử chuẩn 20ml $H_2C_2O_4$ 0,1N hết 19,8 ml NaOH vừa pha (với chỉ thị màu phenolphtalein). Vậy nồng độ thực của dung dịch NaOH là :

Áp dụng công thức $V_1N_1 = V_2N_2$ ta có :

$$N_{NaOH} \times 19,80 = 0,100 \times 20$$

$$N_{NaOH} = \frac{2}{19,8} = 0,101\,N$$

Muốn điều chỉnh dung dịch này về nồng độ NaOH 0,1N ta cũng áp dụng công thức trên :

$$V_1 \times 0,101 = 1000\,(ml) \times 0,1\,(N)$$

$$V_1 = 990,1\,ml$$

Như vậy lấy 990,1 ml NaOH 0,101 N pha thành 1000 ml bằng nước cất sẽ được dung dịch NaOH 0,1N.

4. Chuyển đổi nồng độ dung dịch sang các dạng khác nhau của một nguyên tố

Trong phân tích, nhiều khi cần thiết phải chuyển đổi nồng độ dung dịch của cùng 1 nguyên tố từ dạng này sang dạng khác. Ví dụ, có nồng độ dung dịch là 1mg K^+/ml, ta cần biết nếu tính theo K_2O thì nồng độ của dung dịch sẽ là bao nhiêu mg K_2O/ml ? Hay cần nồng độ dung dịch là 1mg N/ml, lượng $(NH_4)_2SO_4$ cần lấy để pha dung dịch đó sẽ là bao nhiêu ?

Công việc này đòi hỏi phải tính toán trên cơ sở nguyên tử lượng của từng nguyên tố thành phần nên sẽ mất thời gian và gặp khó khăn. Hiện nay đã có bảng tính sẵn cho một số nguyên tố cần thiết trên cơ sở sử dụng hệ số chuyển đổi F, ta dễ dàng tìm được lượng các chất tương ứng cần thiết.

Hệ số chuyển đổi F một số chất

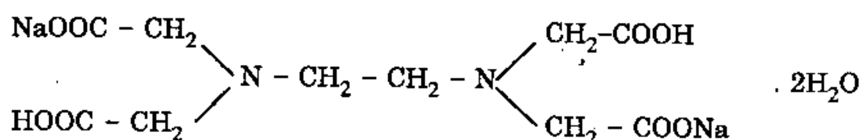
F	Dạng chuyển đổi	F
4,717	$(NH_4)_2SO_4 \leftrightarrow N$	0,212
1,430	$Fe_2O_3 \leftrightarrow Fe$	0,699
0,505	$CaO \leftrightarrow CaCl_2$	1,979

Ví dụ : Cần pha 1 lít dung dịch có nồng độ 1 mgN/ml từ $(NH_4)_2SO_4$. Theo bảng trên F của N → $(NH_4)_2SO_4$ là 4,717 nghĩa là lấy 4,717g $(NH_4)_2SO_4$ pha thành 1 lít.

5. Cách pha chế các dung dịch thông thường (xem phần phụ lục)

6. Phương pháp chuẩn độ bằng trilon B

Trilon B hay complexon III là muối dinatri của axit etilen diamin tetra axetic (EDTA), có công thức :



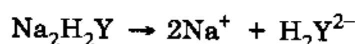
thường được viết gọn dưới dạng công thức Na_2H_2Y.

Ngày nay, phương pháp chuẩn độ trilon B được sử dụng rất rộng rãi trong phân tích hóa học nói chung và phân tích đất nói riêng.

Trilon B là chất bột màu trắng, kết tinh, ngậm 2 phân tử nước và có đầy đủ tính chất của 1 chất gốc. Do vậy khi pha dung dịch chuẩn trilon B chỉ cần cân chính xác lượng cần thiết trilon B (khô) rồi pha thành dung dịch là được.

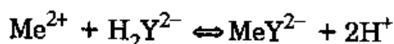
a) Liên kết giữa trilon B và các ion kim loại

Khi hòa tan trong nước trilon B sẽ phân li theo phương trình sau :

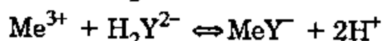


$$Na_2H_2Y \rightarrow 2Na^+ + H_2Y^{2-}$$

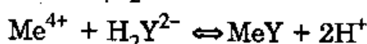
Trong điều kiện thích hợp H_2Y^{2-} kết hợp với các cation kim loại hóa trị 2 (Me^{2+}), hóa trị 3 (Me^{3+}) và hóa trị 4 (Me^{4+}) :



$$Me^{2+} + H_2Y^{2-} \Leftrightarrow MeY^{2-} + 2H^+$$

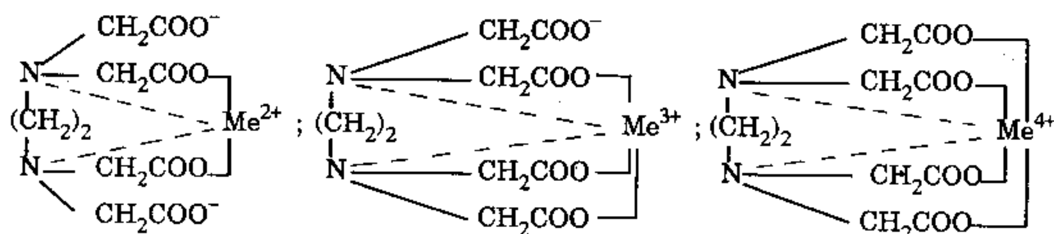


$$Me^{3+} + H_2Y^{2-} \Leftrightarrow MeY^- + 2H^+$$



$$Me^{4+} + H_2Y^{2-} \Leftrightarrow MeY + 2H^+$$

Cấu tạo không gian của chúng như sau :



Phức của ion kim loại với complexon III gọi là complexonat. Khả năng tạo thành các complexonat phụ thuộc vào :

– *Độ axit :* Thường các phức của trilon B với các ion kim loại hóa trị 3, 4 bền trong môi trường axit hơn là phức của trilon B với ion kim loại hóa trị 2. Khi pH tăng, các ion kim loại hóa trị 3, 4 dễ bị kết tủa dưới dạng hiđroxit. Các phức của ion hóa trị 2 với trilon B thì bền vững ở pH cao hơn. Do vậy khi chuẩn độ phải giữ pH của dung dịch ở khoảng thích hợp với phản ứng, thường dùng dung dịch đệm.

– *Nhiệt độ :* Nhiệt độ tăng làm tăng tốc độ tạo phức. Nhiều trường hợp cần thiết phải chuẩn độ ở 40 – 60°C.

b) *Một số điểm cần chú ý trong phân tích bằng chuẩn độ trilon B*

– Một phân tử complexon III luôn luôn liên kết với 1 ion kim loại, không phụ thuộc vào hóa trị của nó. Cấu tạo của complexonat bao gồm cả liên kết hóa trị và liên kết phối trí với 2 nguyên tử nitơ.

– Phản ứng tạo thành complexonat giải phóng ra 2 ion H^+ không phụ thuộc vào hóa trị của ion kim loại, do vậy đương lượng gam của chúng được tính bằng phân tử lượng chia cho 2.

$$\text{Đương lượng gam (EDTA)} = \frac{M_{EDTA}}{2}$$

$$\text{Đương lượng gam (kim loại)} = \frac{M_{\text{kim loại}}}{2}$$

– Độ bền của complexonat khác nhau thì khác nhau. Độ bền của phức chất được đánh giá thông qua hằng số không bền pK.

$$pK = -\lg K$$

Khi pK càng lớn thì phức chất càng bền, hay mức độ phân li ít.

Ví dụ : pK của CaY^{2-} là 10,96 (tại M = 0,1 và 25°C)



$$CaY^{2-} \Leftrightarrow Ca^{2+} + Y^{2-}$$

$$K = \frac{[Ca^{2+}][Y^{2-}]}{[CaY^{2-}]}$$

$$pK = -\lg K = 10,96$$

Trong 1 dung dịch có nhiều cation kim loại tự do thì trilon B sẽ liên kết trước hết với các cation kim loại có hằng số không bền cao hơn, hay những cation tạo phức chất bền hơn với trilon B. *Ví dụ,* khi Fe^{3+} và Al^{3+} cùng có mặt trong dung dịch, thì trilon B sẽ tạo phức với Fe^{3+} trước vì complexonat sắt có hằng số không bền là 25,1 cao hơn so với Al ($pK_{Al-EDTA}$ = 16,13).

Bảng hằng số pK của một số complexonat (M = 0,1, t = 25°C).

Cation	Complexonat	pK	Cation	Complexonat	pK
Li^+	LiY^{3-}	2,79	Cu2+	CuY^{2-}	18,80
Na^+	NaY^{3-}	1,66	Hg^{2+}	HgY^{2-}	21,80
Ag^+	AgY^{3-}	7,20	Mn^{2+}	MnY^{2-}	14,04
Mg^{2+}	MgY^{2-}	8,69	Fe^{2+}	FeY^{2-}	14,33
Ca^{2+}	CaY^{2-}	10,96	Co^{2+}	CoY^{2-}	16,31
Sr^{2+}	SrY^{2-}	8,63	Ni^{2+}	NiY^{2-}	18,62
Ba^{2+}	BaY^{2-}	7,76	Pb^{2+}	PbY^{2-}	18,04
Zn^{2+}	ZnY^{2-}	16,50	Al^{3+}	AlY^-	16,13
Cd^{2+}	CdY^{2-}	16,46	Fe^{3+}	FeY^-	25,10
			Ti^{4+}	TiY	19,10

– pH môi trường có ảnh hưởng đến việc tạo các complexonat, trong môi trường kiềm một số cation kim loại bị kết tủa dưới dạng hidroxit, không tạo thành các complexonat vì độ bền của hidroxit kim loại đó bền vững hơn các complexonat của chúng.

– Độ bền của complexonat một kim loại nào đó phải lớn hơn độ bền của phức chất tạo thành giữa cation kim loại đó với chất chỉ thị. *Ví dụ,* khi chuẩn độ Mg^{2+} bằng trilon B với chỉ thị cromogen đen, lúc đầu dung dịch có màu đỏ mận của phức chất giữa Mg^{2+} với cromogen đen. Khi chuẩn độ, trilon B sẽ tạo phức với Mg^{2+} và đẩy cromogen đen thành dạng tự do (do trilon B liên kết mạnh với Mg^{2+} hơn là liên kết cromogen đen với Mg^{2+}). Tại điểm tương đương toàn bộ Mg^{2+} đã liên kết hết với trilon B, cromogen đen được giải phóng ra có màu xanh.

Ngược lại khi phức chất màu bền hơn complexonat thì không thể chuẩn độ được. Ví dụ, không thể chuẩn độ Cu^{2+} bằng trilon B với chỉ thị cromogen đen ở pH = 10, vì cromogen đen với Cu^{2+} tạo phức màu bền hơn nên trilon B không lấy được Cu^{2+} ra khỏi phức màu và không thể giải phóng cromogen đen ra dạng tự do.

c) *Một số chất che khi chuẩn độ hỗn hợp nhiều ion bằng trilon B*

Do complexon III có khả năng tạo phức với nhiều ion khác nhau, nên khi chuẩn độ một ion nào đó trong hỗn hợp có nhiều ion khác nhau cần phải loại trừ chúng. Các chất được sử dụng gọi là các chất che, nó có tác dụng tạo phức bền với các ion lạ nhưng không tạo phức với ion cần xác định.

Các chất che thường dùng :

- KCN để che Fe, Cd, Hg, Cu, Zn, Ag, Ni, Co,
- Triethanolamin để che Fe, Al, Mn
- Dimecaptopropanol để che Zn, Cd, Hg, Sb, Sn, Pb, Bi
- NH_4F để che Al, Ti.

Ngoài sử dụng các chất che, còn dùng các chất để kết tủa các ion lạ, hoặc có thể kết hợp cả 2 phương pháp : che và kết tủa để tiến hành chuẩn độ với complexon III.

Phương pháp chuẩn độ complexon III có thể xác định được nhiều chất khác nhau như Mg^{2+}, Ca^{2+}, Pb^{2+}, Fe^{3+}, Al^{3+}, CN^-, SO_4^{2-}, ... nên chúng được sử dụng rất phổ biến trong phân tích đất.

d) Chất chỉ thị dùng trong chuẩn độ trilon B

– Cromogen đen ET.00 (còn gọi là Eriocromo đen T), công thức $C_{20}H_{13}O_7N_2SNa$, thường dùng để chuẩn độ tổng Ca^{2+} và Mg^{2+} ở pH = 10, dạng tự do có màu xanh biển, dạng liên kết với Ca, Mg có màu đỏ mận. Cùng loại với eriocromo đen T có crom xanh đen axit $C_{16}H_{10}O_9N_2S_2Na_2$ và crom xanh K có công thức $C_{16}H_9O_{12}N_2S_3Na_3$.

– Metintimon xanh tức 3.3' bis – di (cacboxi metin) aminometin timon sunfo = ftalein. Dạng tự do có màu tím, dạng liên kết có màu xanh biển. Thường dùng làm chỉ thị cho xác định Ca, Mg, ở pH = 10 như cromogen đen nhưng có ưu điểm hơn là không bị ảnh hưởng của Cu^{2+} (cromogen đen khi có mặt Cu^{2+} dù với lượng rất nhỏ cũng không chuyển màu ở điểm tương đương).

– Murexit $C_8H_8N_6O_6 \cdot H_2O$ là muối amon của axit pupurovic. Khi kết hợp với canxi có màu hồng, dạng tự do có màu tím. Dùng làm chỉ thị để chuẩn độ Ca^{2+} ở pH = 12 (trong điều kiện này Al^{3+}, Fe^{3+} và cả Mg^{2+} đã bị kết tủa dưới dạng hidroxit), màu của nó kém bền nên cho vào trước khi chuẩn độ.

– Fluorexin (còn gọi là Calcein), trong môi trường kiềm (pH = 13) sẽ tạo phức với Ca, Sr, Ba có màu da cam – hồng và đặc biệt là phát ra huỳnh quang màu lục.

– Patton Reeder $C_{21}H_{14}N_2O_5S$ còn gọi là (HHSNN) là chỉ thị cho canxi thay cho murexit khi chuẩn độ Ca^{2+} ở pH = 12 vì nó chuyển màu rõ hơn và màu bền hơn. Dạng liên kết với kim loại (Ca) có màu đỏ nâu, dạng tự do có màu xanh biển.

– Ngoài ra còn nhiều chỉ thị khác được sử dụng như axit sunfoxalicilic, sunfoxianua amôn dùng khi xác định Fe^{3+} ; dithizon khi xác định Zn ; cromazuron S khi xác định Al...

Hầu hết các chỉ thị kể trên được sử dụng trong những điều kiện pH đã được thiết lập để chuẩn độ, vì sự biến màu của chúng phụ thuộc pH.

e) *Pha dung dịch trilon B tiêu chuẩn*

Công thức phân tử của trilon B là $C_{10}H_{14}O_8N_2Na_2 \cdot 2H_2O$ có phân tử lượng bằng 372,242, là chất có đầy đủ tính chất của một chất gốc nên có thể pha dung dịch chuẩn từ những lượng cân chính xác. Để pha 1 lít dung dịch trilon B có nồng độ tương ứng người ta cân những lượng cân như sau :

0,200N = 0,100M : lấy 37,22g EDTA

0,100N = 0,050M : lấy 18,61g EDTA

0,050N = 0,025M : lấy 9,306g EDTA

0,020N = 0,010M : lấy 3,722g EDTA

sau đó hòa tan và định mức bằng nước cất.

Thông thường trilon B pha như trên là được, nhưng muốn kiểm tra lại nồng độ thì dùng các dung dịch kẽm hoặc magie tiêu chuẩn. Tiến hành chuẩn độ ở pH = 10 (với chất đệm $NH_4Cl + NH_4OH$), chỉ thị màu là cromogen đen. Chất gốc có thể là :

– Kẽm : Cân 0,6538g kẽm kim loại tinh khiết hòa tan với 5ml HCl (1 : 1), đun nhẹ trong tủ hốt. Hòa tan xong chuyển toàn bộ vào bình định mức 1 lít rồi lên thể tích đến vạch được dung dịch $ZnCl_2$ 0,01M.

– $MgCl_2$ khan hòa trong nước cất.

Chương 3

CÁC PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH HÓA LÍ DÙNG TRONG PHÂN TÍCH ĐẤT

1. Phương pháp so màu quang điện

Phương pháp so màu là phương pháp phân tích dựa trên sự so sánh cường độ màu của dung dịch nghiên cứu với cường độ màu của dung dịch tiêu chuẩn có nồng độ xác định.

Phương pháp này được dùng chủ yếu để xác định lượng nhỏ của các chất, tốn ít thời gian so với các phương pháp hóa học khác.

a) Định luật cơ bản của phương pháp so màu. Nếu rọi một dòng sáng (cường độ I_o) vào một cuvet đựng dung dịch thì một phần của nó (cường độ Ir) bị phản xạ từ mặt cuvet, một phần khác (cường độ I_a) bị dung dịch hấp thụ, phần còn lại (cường độ I_t) đi qua cuvet. Ta có :

$$I_o = I_a + I_r + I_t \qquad (1)$$

Khi sử dụng một loại cuvet có thể xem cường độ dòng sáng phản xạ là không đổi, và thường không lớn nên có thể bỏ qua. Khi đó phương trình trên có dạng :

$$I_o = I_a + I_t \qquad (2)$$

I_o và I_t có thể đo trực tiếp, còn I_a tìm được theo $I_a = I_o - I_t$. Dựa trên vô số thực nghiệm, Bugơ (Bougueur) và Lămbe (Lambert) đã thiết lập định luật và phát biểu như sau : Những lớp chất có chiều dày đồng nhất trong những điều kiện khác như nhau luôn luôn hấp thụ một tỉ lệ như nhau của chùm sáng rọi vào những lớp chất đó.

Biểu thức toán học của định luật là :

$$I_t = I_o \cdot e^{-kl} \qquad (3)$$

l : chiều dày lớp hấp thụ.

k : hệ số tắt, hệ số này chỉ phụ thuộc vào bản chất chất tan và bước sóng ánh sáng chiếu vào dung dịch. Do đó định luật hấp thụ ánh sáng Bugơ – Lămbe chỉ đúng cho tia đơn sắc.

Khi nghiên cứu sự hấp thụ ánh sáng bởi dung dịch, Bia (Beer) đã thiết lập rằng, hệ số tắt k tỉ lệ với nồng độ chất hấp thụ, tức là :

$$k = \varepsilon' C$$

Kết hợp những nghiên cứu của Bugơ – Lămbe – Bia ta có :

$$I_t = I_o . e^{-\varepsilon' Cl}$$

$$\text{hay} \quad I_t = I_o . 10^{-\varepsilon Cl} \qquad (4)$$

Nếu nồng độ C được tính theo mol/lít ; chiều dày lớp dung dịch l đo bằng cm thì ε được gọi là hệ số tắt phân tử hay hệ số hấp thụ phân tử ; ε là một đại lượng không đổi phụ thuộc vào bước sóng ánh sáng, bản chất của chất tan, nhiệt độ dung dịch.

b. Các đại lượng thường dùng trong phương pháp so màu

– Tỉ số giữa cường độ chùm sáng sau khi đi qua dung dịch (I_t) với cường độ chùm sáng chiếu vào dung dịch (I_o) gọi là độ truyền qua, kí hiệu bằng T.

$$T = \frac{I_t}{I_o} = 10^{-\varepsilon Cl} \qquad (5)$$

Đại lượng T ứng với chiều dày lớp dung dịch bằng 1cm gọi là hệ số truyền qua.

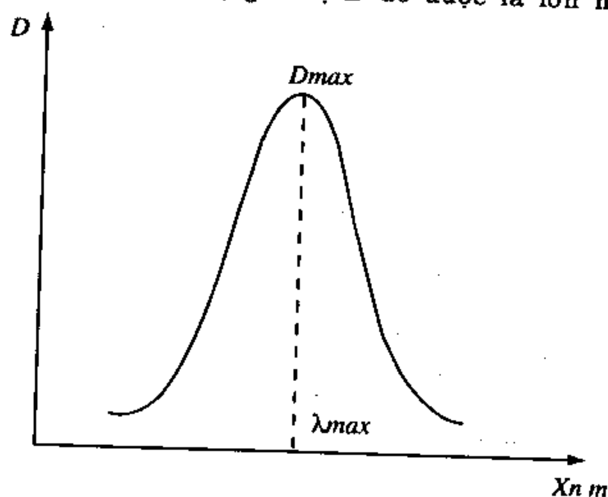
– Loga của đại lượng nghịch đảo với độ truyền qua gọi là mật độ quang D hay độ tắt E (extinction)

$$D = E = \lg\frac{1}{T} = \lg\frac{I_o}{I_t} = \varepsilon Cl \qquad (6)$$

Từ định nghĩa này ta suy ra là mật độ quang D tỉ lệ thuận với nồng độ chất tan trong dung dịch.

c) Vùng quang phổ hấp thụ. Đặc điểm hấp thụ ánh sáng của các hợp chất màu là sự hấp thụ chọn lọc. Hệ số hấp thụ phân tử của hợp chất màu và mật độ quang của dung dịch khác nhau đối với những ánh sáng đi qua có các bước sóng khác nhau. Vì vậy phổ hấp thụ cũng là một đặc trưng điển hình của các hợp chất màu.

Khi sử dụng phương pháp so màu để định lượng một chất người ta phải dùng tia đơn sắc nào mà khi chiếu qua dung dịch, giá trị D đo được là lớn nhất. Muốn vậy người ta đo giá trị mật độ quang hoặc hệ số hấp thụ phân tử của dung dịch màu với những bước sóng khác nhau, cách nhau 10 – 20nm. Ở giá trị bước sóng nào mà D đo được là lớn nhất thì đó chính là bước sóng ánh sáng thích hợp để định lượng hợp chất màu này (hình 3)



Hình 3 – Vùng quang phổ hấp thụ

d) Kính lọc màu. Để đảm bảo độ nhạy và độ chính xác của phép xác định người ta không cho dung dịch hấp phụ một hỗn hợp ánh sáng mà chỉ cho những tia sáng bị dung dịch màu hấp phụ cực đại đi qua. Muốn tách được những tia sáng này người ta phải dùng kính lọc sáng (kính lọc màu).

Kính lọc sáng là tên gọi chung các môi trường như thủy tinh, màng tổng hợp ... chỉ cho những tia sáng thuộc một vùng xác định của quang phổ đi qua.

Kính lọc sáng trong phương pháp so màu phải đảm bảo những ánh sáng đơn sắc truyền qua cực đại ở những bước sóng trùng với bước sóng hấp phụ cực đại của dung dịch màu xác định, tức là những tia sáng đơn sắc đi qua kính lọc màu phải bị dung dịch màu hấp phụ chọn lọc cao nhất. Muốn vậy trước khi đo dung dịch một hợp chất màu chưa biết λ_{max} (bước sóng ánh sáng bị hấp thụ cực đại) ta có thể làm theo lối thực nghiệm : quay các kính lọc màu xem kính nào cho ánh sáng màu bị hấp thụ mạnh nhất, hoặc có thể dựa vào màu sắc của dung dịch xác định để tìm kính lọc màu thích hợp theo bảng sau :

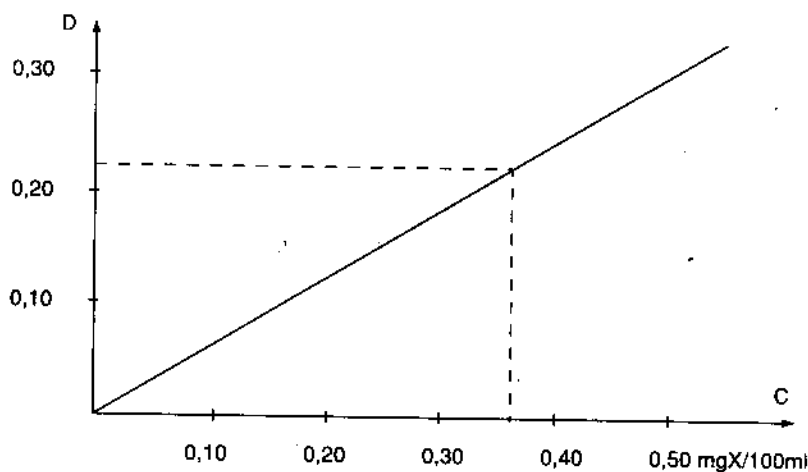
Màu của dung dịch	Màu của kính lọc sáng
Tím	Lục vàng
Xanh	Vàng
Xanh lục	Da cam
Lục xanh	Đỏ
Lục	Đỏ nâu
Lục vàng	Tím
Vàng	Xanh
Da cam	Xanh lục
Đỏ	Lục xanh

e) Phương pháp xác định nồng độ các chất. Khi tiến hành một loạt phép xác định, phương pháp thuận lợi nhất là phương pháp đường chuẩn. Để xây dựng đường chuẩn ta đo màu các dung dịch chuẩn của chất đó với các nồng độ đã biết.

Tiến hành đo giá trị mật độ quang (hay phần trăm độ truyền qua) của dãy dung dịch chuẩn này và xây dựng đường chuẩn trên giấy milimet. Trục hoành biểu diễn giá trị nồng độ nguyên tố cần xác định, trục tung biểu thị giá trị mật độ quang nhận được.

Nếu nồng độ dung dịch màu nằm trong khoảng tuân theo định luật Bugơ – Lămbe – Bia thì tất cả giá trị mật độ quang nhận được nằm trên một đường thẳng. Sau đó đo giá trị mật độ quang của dung dịch màu nghiên cứu ở cùng cuvet và kính lọc màu dùng đo các dung dịch chuẩn. Theo đường chuẩn, ta xác định được nồng độ dung dịch màu nghiên cứu (hình 4)

Về lí thuyết, các điểm để xây dựng đồ thị phải nằm trên một đường thẳng, nhưng trong thực tế do những sai số khó tránh khỏi, chúng có chênh lệch ít nhiều, vì vậy



Hình 4 – Phương pháp đường chuẩn xác định nồng độ các chất

khi kẻ đường thẳng của đồ thị phải kẻ sao để đại diện cho đường thẳng lí thuyết của các điểm.

Vì màu biến đổi theo thời gian (thường bị nhạt dần), cho nên không kéo dài thời gian đo, do đó số lượng mẫu phải hạn chế. Nhưng nếu dung dịch có màu bền thì không đòi hỏi khắt khe như vậy.

2. Phương pháp quang kế ngọn lửa (flamphotomet)

Phương pháp quang kế ngọn lửa là một dạng phân tích quang phổ phát xạ. Nguyên lí cơ bản của phương pháp như sau : Dưới tác dụng của nhiệt độ, ngọn lửa các nguyên tử, phân tử hoặc ion một chất bị kích thích mà chuyển sang trạng thái các dao động của điện tử phát xạ. Cường độ phát xạ này được đo bằng dụng cụ quang học rồi từ đó tính ra nồng độ chất cần xác định. Phạm vi sử dụng quang kế ngọn lửa rất lớn. Rất nhiều nguyên tố có thể dùng phương pháp này để xác định trực tiếp hoặc gián tiếp với tốc độ nhanh mà độ chính xác lại cao.

a) Cơ sở lí thuyết. Sự hấp thụ hoặc phát xạ năng lượng ánh sáng làm cho nguyên tử (hoặc phân tử, ion) từ trạng thái bình thường sang trạng thái kích thích và ngược lại. Ở trạng thái bình thường nguyên tử có năng lượng nhỏ nhất, khi hấp thụ năng lượng chúng chuyển sang trạng thái kích thích. Thời gian nguyên tử ở trạng thái kích thích rất ngắn (thường là 10^{-8} giây) rồi lại chuyển sang trạng thái cân bằng kèm theo sự phát xạ.

Sự phát xạ phụ thuộc vào mức năng lượng của chúng ở trạng thái bình thường và trạng thái kích thích.

$$\Delta E = E_2 - E_1 = h\nu \qquad (7)$$

Như vậy mỗi một nguyên tử hay ion biến đổi từ trạng thái bình thường sang trạng thái kích thích được đặc trưng bằng một trị số năng lượng nhất định. Vì vậy sự phát xạ nguyên tử của bất kì một nguyên tố nào cũng có thành phần quang phổ đặc trưng hay cấu tạo vạch quang phổ đặc trưng.

Để ứng dụng trong phép phân tích định lượng người ta chọn lấy một vạch quang phổ đặc trưng nhất tức là một lượng nhỏ chất đó vẫn xuất hiện vạch phổ này. Sự thay đổi cường độ của những vạch này xác định lượng nguyên tố cần phân tích.

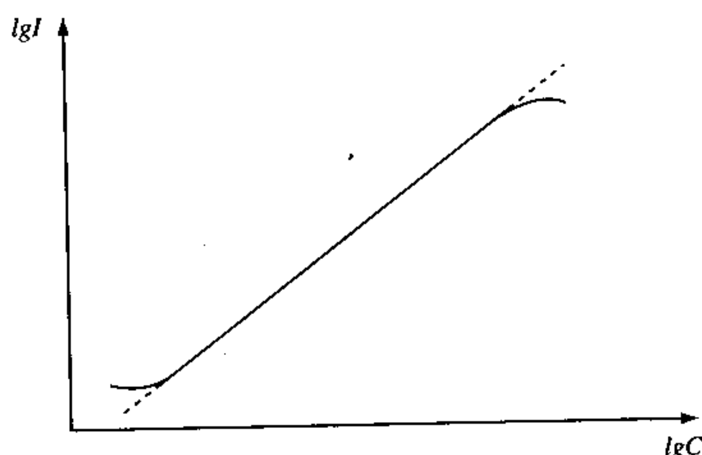
Sự kích thích quang phổ phát xạ tăng lên cùng với nguồn năng lượng ban đầu cung cấp, tức là nhiệt độ. Tuy nhiên một số nguyên tố (như kim loại kiềm, kiềm thổ) có thể phát xạ ánh sáng ở nhiệt độ không cao lắm, vì vậy việc xác định những

nguyên tố này không cần thiết phải đốt ở nhiệt độ rất cao. Nói chung để nhận được những vạch quang phổ cần có nhiệt độ thích hợp cho từng nguyên tố.

NHIỆT ĐỘ CỦA MỘT SỐ NGỌN LỬA THƯỜNG DÙNG
(theo Poluectov)

Hỗn hợp cháy	Nhiệt độ ngọn lửa (°C)
Propan - không khí	1700 - 1800
Hidro - không khí	2000 - 2045
Axetilen - không khí	2125 - 2397
Hidro - oxi	2550 - 2660
Axetilen - oxi	3100 - 3137
Propan - oxi	2850

Khi tăng nồng độ nguyên tố có thể xảy ra hiện tượng tự hấp thụ phát xạ, tức là những nguyên tử không bị kích thích sẽ hấp thụ một phần năng lượng phát xạ. Vì thế nên bắt đầu từ một giới hạn nồng độ nào đó (đối với mỗi nguyên tố xác định) thì quan hệ giữa cường độ phát xạ I và nồng độ C sẽ không là tuyến tính (hình 5), tức là phương pháp quang kế ngọn lửa chỉ đúng và dùng được trong một phạm vi nhất định về nồng độ đối với từng nguyên tố.



Hình 5 – Quan hệ giữa cường độ phát xạ (I) và nồng độ nguyên tố (C)

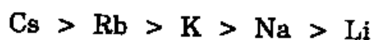
Ngoài ra cần chú ý tới những điều kiện sau :

– Quá trình xảy ra trong ngọn lửa : Ở điều kiện nhiệt độ cao có sự bay hơi lớn, phân tử các muối phân li tham gia phản ứng với các thành phần khác, kết quả là cùng một lúc trong ngọn lửa có tồn tại một lượng electron tự do, ion, phân tử, nguyên tử ... Cân bằng giữa những dạng này phụ thuộc vào nhiệt độ của ngọn lửa, thành phần hơi của dung dịch, điều kiện oxi hóa – khử. Vì vậy thành phần dung dịch chứa nguyên tố cần xác định có ảnh hưởng đến kết quả phân tích. Để loại trừ ảnh hưởng này, cần cố tạo cho dung dịch chuẩn có thành phần giống như thành phần dung dịch phân tích.

Thành phần dung dịch không những ảnh hưởng đến các quá trình xảy ra trong ngọn lửa mà còn ảnh hưởng tới quá trình phun. Nhiệt độ, sức căng bề mặt ... sẽ thay đổi lượng dung dịch được hút qua vòi phun tham gia vào trong ngọn lửa, nên độ sáng của ngọn lửa cũng sẽ thay đổi. Điều đó sẽ gây nên sai số cho phép phân tích.

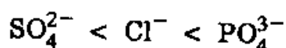
– Sự có mặt của các ion lạ với lượng lớn trong dung dịch sẽ làm chuyển dịch cân bằng trong các phản ứng phân li và ion hóa trong dung dịch. Ví dụ như cường độ phát xạ của canxi và của các kim loại kiềm khác giảm xuống khi có mặt nhôm vì khi đó tạo thành một hợp chất khó phân li $nCaO.Al_2O_3$. Lượng canxi càng nhiều thì n càng cao.

– Các cation kim loại kiềm có ảnh hưởng đến sự phát xạ của nhau, thường là làm tăng cường độ phát xạ. Ảnh hưởng của các cation kim loại kiềm giảm theo thứ tự sau :



$$Cs > Rb > K > Na > Li$$

– Ảnh hưởng của anion : Khi có mặt một vài anion trong dung dịch sẽ làm giảm nồng độ và cường độ phát xạ của nguyên tử kim loại. Anion nitrat NO_3^- có ảnh hưởng ít nhất đến sự phát xạ của kim loại kiềm. Mức độ ảnh hưởng tăng dần theo thứ tự sau :



$$SO_4^{2-} < Cl^- < PO_4^{3-}$$

– Rất nhiều chất có mặt trong dung dịch thường tự phát xạ với những bước sóng gần với bước sóng phân tích của nguyên tố xác định. Điều đó làm tăng kết quả xác định. Ví dụ, khi xác định natri cần chú ý vạch quang phổ của canxi ; khi xác định kali cần chú ý vạch của liti và rubiđi.

b) Quang kế ngọn lửa

– *Cấu tạo :* Bất kì một quang kế ngọn lửa nào cũng gồm những bộ phận chính như sau :

Nguồn phát xạ : gồm máy bơm không khí nối với ống phun mù để chuyển dung dịch sang trạng thái sol khí (aêrozon) đưa vào ngọn lửa, bộ phận cấp hơi đốt đưa vào đèn.

Thiết bị đơn sắc : thường là các kính lọc phân lập, mỗi nguyên tố có kính lọc màu riêng, thường có các kính lọc của natri, kali, canxi ...

Máy thu phát xạ : đo cường độ phát xạ. Đa số các nước thường dùng tế bào quang điện.

Điện kế nhạy (đến 10^{-10}A). Đó là kiểu điện kế gương quay.

– *Sử dụng :*

Chuẩn bị một thang dung dịch chuẩn đã biết nồng độ, thành phần của chúng thật giống với thành phần dung dịch phân tích.

Mở bình nén không khí và khí đốt axetylen (trước khi đi vào vòi phun và đèn đốt, khí đốt và không khí cần được làm sạch bằng dung dịch H_2SO_4 đặc). Điều chỉnh áp suất khí đốt và không khí cho thích hợp tức là làm sao cho ngọn lửa cháy tốt (nếu ngọn lửa có màu vàng và có khói là thừa khí đốt, điều chỉnh cho ngọn lửa đều, không có màu) và dung dịch bị hút vào ổn định, vừa phải.

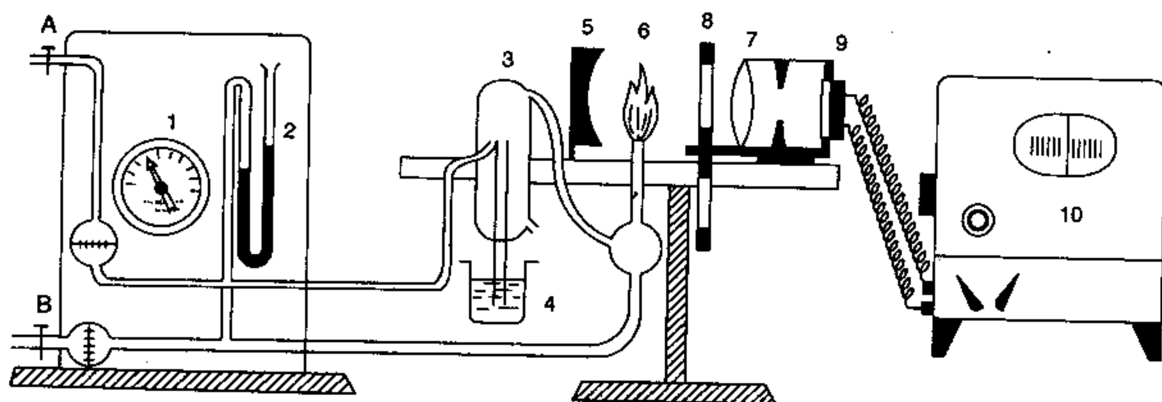
Quay kính lọc tương ứng.

Mở công tắc. Đưa vào dung dịch chuẩn có nồng độ lớn nhất. Nếu chỉ số của điện kế chỉ ngoài thang thì phải giảm màng chắn để đọc được chỉ số trên điện kế. Tiếp tục đo thang chuẩn với nồng độ từ thấp đến cao. Số đọc phải lặp lại hai lần. Mỗi lần thay đổi dung dịch đều phải rửa đèn bằng nước cất và kim điện kế phải chỉ về 0. Vẽ đồ thị chuẩn.

Thay dung dịch chuẩn bằng dung dịch phân tích. Đọc trị số trên điện kế.

Tra đồ thị ta được nồng độ phải xác định.

Đóng vòi khí đốt, đóng tế bào quang điện. Rửa vòi phun bằng nước cất. Thông khí toàn bộ hệ thống.



Hình 6 – Sơ đồ máy quang kế ngọn lửa Carlzeiss

1,2 – Áp kế không khí và hơi đốt ; 3 – Ống phun ; 4 – Cốc đựng dung dịch phân tích ;
5 – Kính lõm phản chiếu ; 6 – Đèn ; 7 – Kính hội tụ ; 8 – Kính lọc phân lập ;
9 – Tế bào quang điện ; 10 – Điện kế.

3. Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (AAS)

Như đã biết, vật chất được cấu tạo từ các nguyên tử và nguyên tử là phần tử nhỏ nhất còn giữ được tính chất của nguyên tố. Trong điều kiện bình thường, nguyên tử không thu hay phát ra năng lượng dưới dạng các bức xạ, lúc này nguyên tử tồn tại ở trạng thái cơ bản. Đó là trạng thái bền vững và nghèo năng lượng nhất của nguyên tử. Khi ở trạng thái hơi nguyên tử tự do, nếu chiếu một chùm tia sáng có những bước sóng xác định vào đám hơi nguyên tử đó thì các nguyên tử tự do sẽ hấp thụ các bức xạ có bước sóng nhất định, ứng đúng với những tia bức xạ mà nó có thể phát ra được trong quá trình phát xạ. Lúc đó nguyên tử đã nhận năng lượng dưới dạng các tia bức xạ và nó chuyển lên trạng thái kích thích có năng lượng cao hơn trạng thái cơ bản. Đó là tính chất đặc trưng của nguyên tử ở trạng thái hơi. Quá trình đó gọi là quá trình hấp thụ năng lượng của nguyên tử. Phổ sinh ra trong quá trình này được gọi là phổ hấp thụ nguyên tử.

Nghiên cứu sự phụ thuộc của cường độ một vạch phổ hấp thụ của một nguyên tố và nồng độ C trong mẫu phân tích, lí thuyết và thực nghiệm cho thấy rằng : trong một vùng nồng độ C nhỏ, mối quan hệ giữa cường độ vạch phổ hấp thụ và nồng độ của nguyên tố đó trong đám hơi cũng tuân theo định luật Bugơ–Lămbe–Bia :

$$D = 0{,}43\ K.C.l \qquad (8)$$

K : hệ số hấp thụ, phụ thuộc vào chiều dài của sóng

C : nồng độ nguyên tố cần xác định có trong ngọn lửa

l : chiều dày của lớp hấp thụ

D : mật độ quang của ngọn lửa ($D = \lg \frac{I_o}{I}$).

Dựa vào giá trị mật độ quang, người ta xác định nồng độ nguyên tử của nguyên tố cần xác định trong thể tích nghiên cứu. Biểu thức trên chứng tỏ mật độ quang của lớp hấp thụ tỉ lệ thuận với nồng độ của nguyên tử chứa trong đó tại bước sóng hấp thụ ứng với nguyên tố đó. Tính tỉ lệ được bảo toàn trong một khoảng nồng độ nào đó, tùy thuộc vào tính chất của nguyên tố cần xác định và tính chất của đèn. Sự phụ thuộc trên là cơ sở thực tiễn của phương pháp phân tích hấp thụ nguyên tử định lượng.

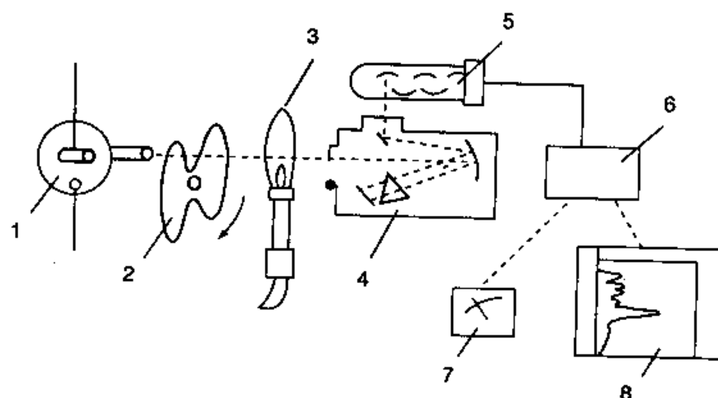
a) Nguyên lí và thiết bị của phép đo quang phổ hấp thụ nguyên tử (AAS). Cơ sở lí thuyết của phép đo AAS là sự hấp thụ năng lượng (bức xạ đơn sắc) của nguyên tử tự do ở trạng thái hơi (khí) khi chiếu chùm tia bức xạ qua đám hơi của nguyên tố ấy trong môi trường hấp thụ. Vì vậy muốn thực hiện được phép đo phổ hấp thụ nguyên tử cần phải có các quá trình sau :

– Chọn các điều kiện và một loại thiết bị phù hợp để chuyển mẫu phân tích từ trạng thái ban đầu (rắn hay dung dịch) thành trạng thái hơi của các nguyên tử tự do. Đó là quá trình nguyên tử hóa mẫu. Những thiết bị để thực hiện quá trình này gọi là hệ thống nguyên tử hóa mẫu.

– Chiếu chùm tia sáng phát xạ của nguyên tố cần phân tích qua đám hơi nguyên tử vừa điều chế được ở trên. Các nguyên tử của nguyên tố cần xác định trong đám hơi sẽ hấp thụ những tia bức xạ nhất định và tạo ra phổ hấp thụ của nó. Ở đây phần cường độ của chùm sáng đã bị một loại nguyên tử hấp thụ và phụ thuộc vào nồng độ của nguyên tố trong môi trường hấp thụ. Nguồn cung cấp chùm tia sáng phát xạ của nguyên tố cần xác định gọi là nguồn bức xạ đơn sắc.

– Nhờ một hệ thống máy quang phổ người ta thu và chọn vạch phổ hấp thụ của nguyên tố cần nghiên cứu để đo cường độ của nó. Cường độ đó chính là tín hiệu hấp thụ của vạch phổ hấp thụ. Trong một giới hạn nhất định của nồng độ, giá trị cường độ này là phụ thuộc tuyến tính vào nồng độ C của nguyên tố cần xác định có trong mẫu phân tích.

– Dựa trên nguyên tắc của phép đo phổ hấp thụ nguyên tử nên dụng cụ dùng trong phương pháp này gồm có những bộ phận chính như sau : nguồn sáng, bộ hấp thụ, thiết bị quang học, thiết bị thu và ghi.



Hình 7 – Sơ đồ nguyên tắc của máy đo quang phổ hấp thụ nguyên tử

1 – Đèn Catốt rỗng, 2 – Bộ ngắt chùm sáng
3 – Ngọn lửa 4 – Máy đơn sắc
5 – Bộ phận quang 6 – Bộ khyếch đại
7 – Microampe 8 – Bộ tự ghi

+ *Nguồn sáng :* Nguồn sáng chính dùng trong phương pháp phân tích quang phổ hấp thụ nguyên tử là các đèn có catôt rỗng. Đèn này là bình hay ống hình trụ bằng thủy tinh có các điện cực dùng để đốt nóng. Bình được nạp đầy một khí trơ nào đó có áp suất thấp (agon, neon, heli, xenon ...). Để có vùng bức xạ tử ngoại, cửa ra của đèn được chế tạo bằng thạch anh hoặc thủy tinh đặc biệt.

Catôt rỗng của đèn được chế tạo bằng một kim loại tinh khiết (hoặc bằng vật liệu khác) dưới dạng ống hình trụ mà mặt phía trong của nó được phủ bằng một chất có chứa nguyên tố cần xác định.

Tính ổn định của đèn khi làm việc là yếu tố rất quan trọng, nó ảnh hưởng đến độ chính xác và độ nhạy của phương pháp phân tích. Tính ổn định đó được xác định bằng tính ổn định của nguồn nuôi khi làm việc, bằng đặc tính cấu trúc và những tính chất đặc thù của đèn. Tính ổn định của đèn khi làm việc đặc biệt có ý nghĩa trong trường hợp sử dụng thang rộng.

Ngoài những loại đèn có catôt rỗng, trong thực tế phân tích người ta còn dùng các đèn không cực cao tần. Đó là các bình bằng thạch anh hay bằng thủy tinh có đường kính từ 10mm đến 20mm, trong đó có đưa vào một kim loại tương ứng (hay hợp chất của nó và một khí trơ (có áp suất vài mmHg) dùng để duy trì sự phóng điện trong đèn. Sự phóng điện trong đèn được sinh ra khi đặt nó vào trong một trường điện từ của máy phát có tần số làm việc 100 – 2450 MH_z. Cũng có thể sử dụng những nguồn phổ hấp thụ như là đèn hidro, đèn xenon, đèn đơteri, nhưng các đèn đó còn chưa được sử dụng rộng rãi trong phân tích quang phổ hấp thụ nguyên tử.

+ *Bộ hấp thụ :* Bộ hấp thụ dùng để chuyển chất phân tích sang trạng thái mà trong đó các chất cần xác định sẽ tồn tại dưới dạng những nguyên tử tự do, có khả năng hấp thụ ánh sáng của nguồn sáng bên ngoài. Có thể dùng các loại đèn khí làm bộ hấp thụ. Các khí thường dùng để đốt đèn là propan, butan, axetilen, hidro... Chất oxi hóa khi đốt cháy là oxi, được sử dụng dưới dạng tinh khiết hoặc dưới dạng hỗn hợp với không khí và một vài loại khí khác.

Đặc tính cơ bản của ngọn lửa là nhiệt độ và thành phần khí của nó, thành phần khí phụ thuộc vào dạng khí đốt và chất oxi hóa. Nhiệt độ và thành phần khí của ngọn lửa xác định mức độ phân li của các hợp chất đưa vào và được tạo thành trong ngọn lửa. Tùy thuộc vào tỉ lệ giữa cacbon và oxi, ngọn lửa sẽ có tính khử hay tính oxi hóa. Ngọn lửa có tính khử khi $C > 0$, có tính oxi hóa khi $C < 0$ và là trung hòa khi $C = 0$.

Đặc tính của dung môi của mẫu được đưa vào trong ngọn lửa có thể ảnh hưởng đến nhiệt độ, thành phần khí và làm cho ngọn lửa có tính khử hoặc tính oxi hóa.

Trong ngọn lửa, sự nguyên tử hóa các nguyên tố hoặc các hợp chất của chúng xảy ra trong những điều kiện khác nhau, tùy thuộc vào hợp chất của nguyên tố ở dạng bền vững với nhiệt hoặc không bền với nhiệt.

Bộ phận phun và đèn là hai phần rất quan trọng của bộ hấp thụ. Chúng có tác dụng quyết định đến độ nhạy và độ chính xác của phép phân tích. Thiết bị phun được dùng để chuyển dung dịch phân tích thành trạng thái sol khí để đưa vào ngọn lửa.

Đèn cũng giữ vai trò đáng kể trong việc xác định tính ổn định và vì vậy đèn cũng xác định cả độ nhạy và độ chính xác của phép phân tích. Đèn thường có một khe liền hoặc có một số dãy các lỗ riêng biệt.

Hiện nay người ta đã nghiên cứu thành công các phương pháp nguyên tử hóa chất phân tích trong bộ phận hấp thụ, đó là phương pháp không dùng ngọn lửa và phương pháp kết hợp (lò – ngọn lửa). Nhờ những phương pháp này mà độ nhạy khi xác định một loạt các nguyên tố được tăng lên rất nhiều.

+ *Thiết bị quang học :* Thiết bị này bao gồm : dụng cụ quang học (máy đơn sắc hay các kính lọc) dùng để tách các vạch phân tích của nguồn, các thấu kính, các màng chắn và các gương phụ để đưa các chùm sáng từ nguồn qua bộ phận hấp thụ.

+ *Thiết bị thu và ghi :* Thiết bị này gồm bộ ghi ánh sáng bao gồm bộ nhân quang và các thiết bị điện để nuôi, bộ khuếch đại dòng quang điện. Bộ ghi có thể là thiết bị đọc biểu kiến, thiết bị tự ghi hoặc thiết bị hiện số cùng với các sơ đồ điện tương ứng của nguồn nuôi hay là thiết bị để in.

b) Những ưu điểm và nhược điểm của phép đo AAS. Cũng như các phương pháp phân tích khác, phương pháp phân tích phổ hấp thụ nguyên tử cũng có những ưu điểm và nhược điểm nhất định :

– *Ưu điểm :*

+ Phép đo phổ hấp thụ nguyên tử có độ nhạy và độ chọn lọc cao. Gần 60 nguyên tố hóa học có thể được xác định bằng phương pháp này với độ nhạy từ 1.10^{-4} đến

$1.10^{-5}\%$. Đặc biệt nếu sử dụng kĩ thuật nguyên tử hóa không ngọn lửa thì có thể đạt đến độ nhạy $n.10^{-7}\%$.

Chính vì có độ nhạy cao nên phương pháp phân tích này đã được sử dụng rộng rãi trong nhiều lĩnh vực để xác định lượng vết các kim loại. Đặc biệt là trong phân tích các nguyên tố vi lượng. Cũng do độ nhạy cao nên trong nhiều trường hợp không phải làm giàu trước nguyên tố cần xác định.

+ Có thể xác định đồng thời hay liên tiếp nhiều nguyên tố trong mẫu. Các kết quả phân tích rất ổn định, sai số nhỏ. Trong nhiều trường hợp sai số không quá 15% với nồng độ ở mức ppm.

– *Nhược điểm :*

+ Phải có một hệ thống máy tương đối đắt tiền.

+ Vì có độ nhạy cao nên sự nhiễm bẩn có ảnh hưởng đến kết quả phân tích hàm lượng vết. Vì thế môi trường không khí trong phòng thí nghiệm phải không có bụi. Các dụng cụ, hóa chất dùng trong phép đo phải có độ tinh khiết cao.

+ Phương pháp chỉ cho ta biết thành phần nguyên tố của chất ở trong mẫu phân tích mà không chỉ ra trạng thái liên kết của nguyên tố ở trong mẫu. Vì thế đây chỉ là phương pháp phân tích thành phần nguyên tố.

c) Đối tượng và phạm vi ứng dụng của phương pháp

– Đối tượng chính của phương pháp là phân tích lượng nhỏ và lượng vết các nguyên tố kim loại của các chất vô cơ và hữu cơ trong các loại mẫu khác nhau : quặng, đất, đá, nước, các sản phẩm nông nghiệp, phân bón...

– Ngoài các kim loại, một số phi kim như Si, P, As, Te ... cũng có thể xác định chính xác bằng phương pháp này.

Trong khoảng hai chục năm trở lại đây phép đo phổ hấp thụ nguyên tử đã và đang được phát triển rất nhanh. Nó được sử dụng như là một công cụ phân tích đắc lực cho nhiều ngành khoa học và kinh tế. Hiện nay nhiều máy đo phổ hấp thụ nguyên tử đã được sản xuất với nhiều tính năng ưu việt. Vì vậy phép đo phổ hấp thụ nguyên tử là một trong những phép đo ưu việt trong hệ thống các phương pháp phân tích hiện nay.

4. Phương pháp cực phổ

Phương pháp cực phổ là phương pháp phân tích do nhà bác học Tiệp Khắc (cũ) Iaroslap Hayropski phát minh ra năm 1922. Phương pháp này ngay từ khi ra đời đã được sử dụng rộng rãi để định lượng các chất vô cơ và hữu cơ trong các đối tượng khác nhau. Nhờ sự hoàn thiện của kĩ thuật cực phổ nên ngày nay đã có hàng loạt các phương pháp cực phổ khác nhau : cực phổ một chiều dòng khuếch tán, các cực phổ dao động, cực phổ xoay chiều, cực phổ hỗn hống, cực phổ xung vi phân...

Chỉ từ những năm 50 phương pháp cực phổ mới bắt đầu được sử dụng trong nghiên cứu thổ nhưỡng và thường được sử dụng nhiều nhất để phân tích hàm lượng

các nguyên tố vi lượng (Cu, Zn, Co, Mo, Mn, Pb, Cd...) trong các đối tượng nông hóa thổ nhưỡng.

a) Cực phổ một chiều dòng khuếch tán (cực phổ cổ điển)

– *Cơ sở lí thuyết của phương pháp.* Phương pháp cực phổ thuộc nhóm các phương pháp phân tích điện hóa, sử dụng quá trình điện phân dung dịch phân tích. Cơ sở của phương pháp là nghiên cứu đường biểu diễn sự phụ thuộc của cường độ dòng điện và thế đặt vào điện cực chỉ thị ở trong bình điện phân chứa ion cần khảo sát, tức là nghiên cứu đường biểu diễn i = f(E). Đường biểu diễn này gọi là đường von – ampe hay còn gọi là sóng cực phổ hoặc đường cực phổ.

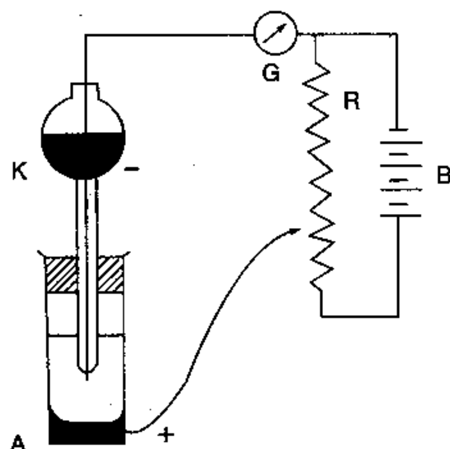
Catôt hay dùng là điện cực giọt thủy ngân làm điện cực chỉ thị còn anôt là đáy thủy ngân hay điện cực calomen bão hòa làm điện cực so sánh.

Thế E đặt vào sẽ tạo nên phân cực catôt (φ_K) và anôt (φ_A). Cân bằng tổng quát của thế bên ngoài đặt vào có thể biểu thị như sau :

$$E = \varphi_K + \varphi_A + i_R \qquad (9)$$

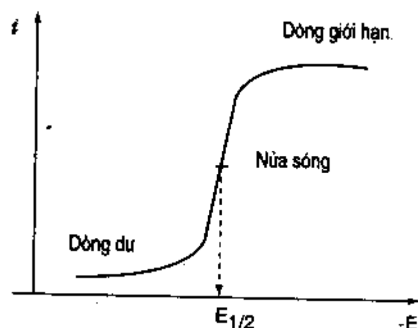
Ở đây i_R là sự giảm thế khi dòng đi qua dung dịch. Các thành phần φ_A và i_R trong cực phổ có khuynh hướng tiến tới cực tiểu do bề mặt lớn của điện cực so sánh và trong dung dịch phân tích có chất điện li trơ (nền), làm giảm điện trở R của dung dịch. Do đó thế bên ngoài đặt vào chỉ gây nên sự phân cực của điện cực giọt thủy ngân. Nếu dùng điện cực giọt thủy ngân làm điện cực chỉ thị và điện cực so sánh là cực calomen bão hòa (thế của cực này trong cực phổ được quy ước bằng không) thì :

$$E = -\varphi K \qquad (10)$$



Hình 8 – Sơ đồ nguyên lí của máy cực phổ
K – Catôt ; A – Anôt ; G – Điện kế ;
R – Điện trở ; B – Nguồn.

Sự phụ thuộc giữa thế của điện cực giọt thủy ngân và cường độ dòng điện biểu thị bằng đồ thị dưới dạng đường cong cực phổ (cực phổ đồ). Dạng tổng quát của cực phổ đồ được thể hiện ở hình 9.



Hình 9 – Sóng cực phổ

Khi đạt được thế khử (hay oxi hóa) của ion nào đó có trong dung dịch, quá trình điện phân được bắt đầu, cường độ dòng điện tăng lên rõ rệt. Sự tăng lên của cường độ dòng chỉ tăng khi trong dung dịch còn lớp khuếch tán sát điện cực có chứa ion gây nên dòng điện phân. Khi nồng độ ion bằng không thì quá trình tăng cường độ dòng sẽ ngừng lại. Khi đó bắt đầu hiện tượng phân cực nồng độ. Khi không có các ion được khử (hay được oxi hóa) ở lớp sát điện cực, cường độ dòng lúc này được gọi là dòng giới hạn khuếch tán, nó có giá trị không đổi do có sự khuếch tán chất từ dung dịch đến lớp sát điện cực.

Cường độ dòng khuếch tán giới hạn tỉ lệ với tốc độ khuếch tán chất đến điện cực, tức là tỉ lệ với nồng độ của chất có trong dung dịch

$$i_d = K.C \qquad (11)$$

K : hệ số tỉ lệ.

Phương trình trên chính là phương trình dòng khuếch tán giới hạn. Dưới dạng chi tiết, D.Incovic đã nêu :

$$i_d = 605.n.D^{1/2}.m^{2/3}.\tau^{1/6}C \qquad (12)$$

n : số electron tham gia trong phản ứng.

D : hệ số khuếch tán.

m : khối lượng thủy ngân thoát ra từ mao quản trong một đơn vị thời gian.

τ : chu kì giọt thủy ngân.

C : nồng độ của chất.

Giá trị hệ số tỉ lệ K phụ thuộc vào đặc tính của điện cực sử dụng, đặc tính của ion được khử hoặc được oxi hóa, đặc tính của chất điện li trơ và nhiệt độ của dung dịch cực phổ.

Trong trường hợp khử cation, giá trị dòng khuếch tán giới hạn có liên quan đến nồng độ của nguyên tố phân tích chỉ là một phần của dòng tổng số i_t

$$i_d = i_t - (i_k + i_g + i_h)$$

i_k : dòng tụ điện.

i_g : dòng điện phân yếu do các tạp chất trong dung dịch gây nên.

i_h : dòng di chuyển.

Dòng di chuyển xuất hiện là do sự di chuyển của các ion dưới tác dụng của lực điện trường, để loại trừ nó người ta thêm vào trong dung dịch phân tích chất điện li trơ.

Dòng điện phân yếu được loại trừ bằng cách tinh chế cẩn thận chất điện li trơ.

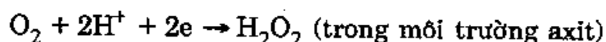
Dòng tụ điện sinh ra do lớp điện kép của dòng khuếch tán ở sát điện cực tích điện, dòng này nói chung cũng khó loại trừ. Dòng tụ điện và dòng điện phân yếu gộp lại thành dòng dư.

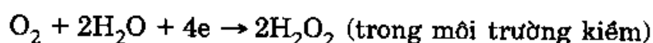
Dòng dư trong nhiều trường hợp lớn đến nỗi người ta không thể đo được sóng cực phổ, đặc biệt khi xác định các nguyên tố vi lượng trong đất và trong thực vật đòi hỏi tiến hành ở độ nhạy cao.

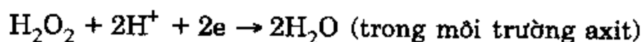
Để làm giảm dòng dư xuống một cách đáng kể, hiện nay trong tất cả các máy cực phổ người ta đều có thiết bị bổ chính. Sử dụng thiết bị bổ chính cho phép nhận được dạng sóng cực phổ tốt hơn đáng kể và như thế sẽ nâng cao hơn độ nhạy và độ lặp lại của kết quả.

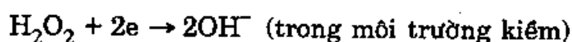
Khi sử dụng cột thủy ngân cao người ta nhận được những kết quả tốt vì khi đó sự tăng của dòng bổ chính nhỏ hơn đáng kể so với sự tăng của dòng khuếch tán. Nguyên nhân làm tăng dòng khuếch tán là do hiện tượng chuyển động tiếp tuyến của giọt thủy ngân, chuyển động này gây nên việc khuấy trộn lớp dung dịch ở cạnh giọt, trên đường cong cực phổ có xuất hiện cực đại. Để loại trừ cực đại người ta thêm vào dung dịch những chất hoạt động bề mặt như aga-aga, gelatin... khi đó chuyển động tiếp tuyến của thủy ngân sẽ giảm đi.

Sóng cực phổ của ion xác định thường bị sai lệch do có xuất hiện sóng của oxi, oxi chứa trong dung dịch của ion xác định được khử trên điện cực giọt thủy ngân :


$$O_2 + 2H^+ + 2e \rightarrow H_2O_2 \text{ (trong môi trường axit)}$$


$$O_2 + 2H_2O + 4e \rightarrow 2H_2O_2 \text{ (trong môi trường kiềm)}$$


$$H_2O_2 + 2H^+ + 2e \rightarrow 2H_2O \text{ (trong môi trường axit)}$$


$$H_2O_2 + 2e \rightarrow 2OH^- \text{ (trong môi trường kiềm)}$$

Để loại oxi, trước khi cực phổ người ta cho khí H_2 hay N_2 sục qua dung dịch. Trong trường hợp những dung dịch axit, để loại oxi ta có thể dùng CO_2. Trong môi trường kiềm để loại oxi người ta hay dùng natri sunfit. Thêm 0,1g Na_2SO_3 trong 100ml dung dịch có thể khử hoàn toàn được oxi trong thời gian khoảng 5 phút.

– Phân tích cực phổ định tính và định lượng

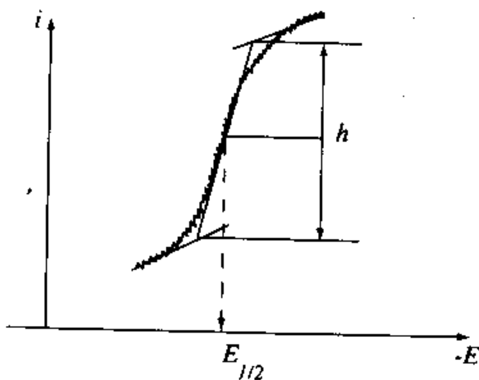
Khi xác định định tính ion được khử (hoặc được oxi hóa) người ta dựa vào giá trị thế bán sóng $E_{1/2}$. Giá trị thế bán sóng bằng giá trị thế của điện cực chỉ thị khi cường độ dòng bằng 1/2 giá trị của dòng giới hạn.

Giá trị thế bán sóng không phụ thuộc vào nồng độ của chất phản ứng, không phụ thuộc vào vận tốc chảy của giọt thủy ngân qua mao quản và các yếu tố khác. Đây là một hằng số đặc trưng cho ion trong một nền nhất định. Vì thế việc lựa chọn chất điện li trơ (chất nền) có ý nghĩa to lớn trong phân tích cực phổ. Hiện nay,

người ta dùng các chất điện li có thành phần khác nhau (các axit, các muối trung tính, các dung dịch kiềm, các chất tạo phức khác nhau) làm chất nền. Đối với đa số chất nền, người ta đã thành lập được các nguyên tố có khả năng được khử hoặc được oxi hóa và các giá trị thế bán sóng. Các bảng này có ghi trong các sách chuyên khảo hoặc các sổ tay.

Khi phân tích một nguyên tố hay một vài nguyên tố cần phải chọn chất điện li trơ (chất nền) để loại trừ ảnh hưởng của các ion kèm theo.

Giá trị của dòng giới hạn hay chiều cao của sóng cực phổ trong những điều kiện nhất định tỉ lệ với nồng độ ion cần khảo sát. Để xác định chính xác chiều cao của sóng, người ta thường dùng phương pháp của Hon. Theo phương pháp này người ta kẻ 3 đường thẳng ở trên sóng, từ các giao điểm lại kẻ các đường song song với trục hoành. Khoảng cách giữa các đường thẳng này là chiều cao sóng cực phổ. Từ điểm giữa của chiều cao sóng cực phổ kẻ đường thẳng song song với trục hoành. Từ giao điểm của đường này với sóng cực phổ, kẻ đường thẳng song song với trục tung. Đường thẳng này cắt trục hoành ở giá trị nào đó, đấy chính là giá trị thế bán sóng (hình 10). Giá trị thế bán sóng là giá trị tính đối với điện cực calomen bão hòa.



Hình 10 – Phương pháp xác định chiều cao của sóng

Để cực phổ, người ta thường lấy những lượng thể tích nhỏ (3 – 5ml), điều đó sẽ rút ngắn được thời gian đuổi oxi ra khỏi dung dịch.

Trong phân tích định lượng, để xác định nồng độ người ta sử dụng các phương pháp : phương pháp các dung dịch chuẩn, phương pháp thêm và phương pháp đường chuẩn. Thuận lợi nhất khi phân tích hàng loạt là phương pháp đường chuẩn.

Đường chuẩn được vẽ trên đồ thị gồm 2 trục : trục tung ghi giá trị chiều cao của sóng (h, mm), trục hoành ghi giá trị nồng độ C. Đường chuẩn phải đi qua điểm gốc tọa độ. Đôi khi đồ thị không đi qua gốc tọa độ mà cắt trục tung hoặc trục hoành ở một điểm nào đấy. Trong trường hợp cắt trục tung có nghĩa là chưa hoàn toàn triệt tiêu dòng dư hay trong dung dịch nền bị bẩn nguyên tố cần xác định ; khi cắt trục hoành : dòng khuếch tán giới hạn được tính chưa hoàn toàn.

b) *Cực phổ hỗn hống (hay Von–Ampe hòa tan)*

– *Cơ sở lí thuyết của phương pháp :* Để tiến hành cực phổ hỗn hống, người ta thường thực hiện qua 2 giai đoạn :

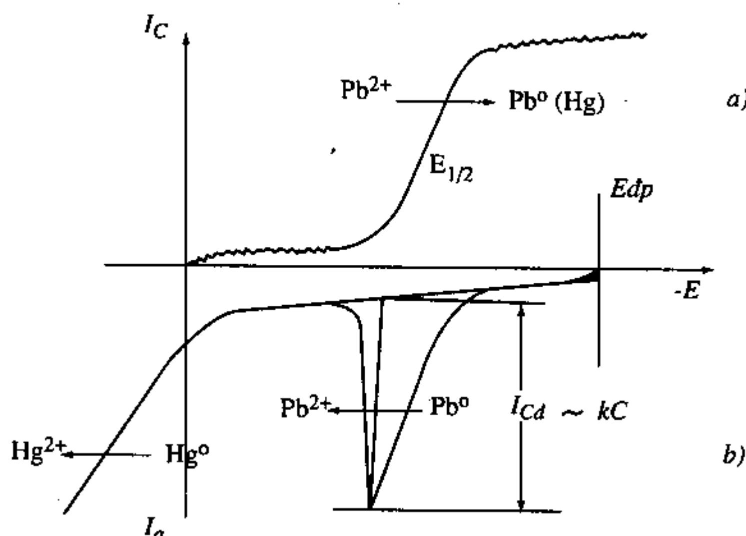
+ Điện phân để làm giàu chất cần phân tích lên bề mặt cực đo dưới dạng một kết tủa (kim loại, hợp chất khó tan). Cực đo thường là cực thủy ngân treo có kích thước nhỏ như giọt thủy ngân trong cực phổ cổ điển, cực đĩa quay bằng vật liệu trơ

(như than thủy tinh, than nhão tinh khiết, than ngâm tẩm platin...), cực màng thủy ngân trên bề mặt cực rắn trơ. Quá trình điện phân thường tiến hành trên các máy cực phổ thông thường tại thế không đổi khi khuấy dung dịch với vận tốc đều. Nếu dùng cực rắn đĩa thì dùng các cực quay quanh trục của nó, nếu dùng cực thủy ngân tĩnh thì khuấy dung dịch bằng máy khuấy từ.

+ Hòa tan kết tủa, làm giàu và ghi đo giá trị cường độ dòng tại thế thay đổi không gián đoạn (sự hòa tan anôt)

Đường cong biểu diễn sự phụ thuộc của cường độ dòng trong sự hòa tan anôt có dạng pic. Theo chiều sâu pic người ta tìm được nồng độ của ion kim loại trong dung dịch và theo thế của pic sẽ biết được bản chất của kim loại.

Hình 11(a) là sóng cực phổ của ion Pb^{2+} nồng độ 2.10^{-4}M trong dung dịch KCNS 0,1M. Hình 11(b) là đường cực phổ hỗn hống (von – ampe hòa tan) của dung dịch chứa ion Pb^{2+} nồng độ 10^{-6}M, KCNS 0,1M khi điện phân làm giàu trong 5 phút tại thế −0,7V. Dùng cực thủy ngân treo có kích thước tương tự giọt thủy ngân khi đo cực phổ, tốc độ phân cực hòa tan anôt là 25 mV/s cả hai đường cong được ghi cùng một độ nhạy của điện kế.



Hình 11 – Các đường cực phổ cổ điển (a), cực phổ hỗn hống (b) của Pb^{2+} trong nền KCNS

Qua đó ta thấy phương pháp cực phổ hỗn hống có độ nhạy cao hơn phương pháp cực phổ cổ điển rất nhiều.

Những yếu tố chủ yếu để xác định cường độ dòng anôt là : nồng độ kim loại trong dung dịch, bán kính giọt thủy ngân, thể tích dung dịch, thời gian điện phân, thế điện phân, những điều kiện thủy động lực học trong thời gian điện phân, tốc độ thay đổi thế trong thời gian ghi và một vài yếu tố khác.

Sự phụ thuộc vào nhiều yếu tố của i_A chứng tỏ quá trình trong cực phổ hỗn hống là phức tạp. Có thể chia chúng thành 2 nhóm :

1) Những quá trình xảy ra khi điện phân.

2) Những quá trình liên quan với sự hòa tan anôt của kim loại từ hỗn hống.

Cường độ của dòng điện phân i_d do phản ứng $Me^{n+} + ne + Hg \Leftrightarrow Me\ (Hg)$ gây nên, phụ thuộc vào nồng độ của ion kim loại trong dung dịch (C_o), phụ thuộc vào diện tích S của điện cực chỉ thị.

$$i_d = K_d . S . C_o \qquad (14)$$

Ở đây K_d là hằng số của dòng điện phân, nó phụ thuộc vào những điều kiện thủy động lực học khi điện phân, phụ thuộc vào hóa trị của ion kim loại và nhiều yếu tố khác.

Tùy thuộc vào sự phối hợp của 3 yếu tố : bán kính giọt thủy ngân (r), thời gian điện phân (t), thể tích dung dịch (v) mà nồng độ kim loại trong dung dịch sau khi điện phân (C_1) có thể bằng hoặc nhỏ hơn nhiều nồng độ ban đầu (C_o). Mức độ tiêu hao của dung dịch (γ) sau khi điện phân được xác định bằng phương trình (A.G.Xtromberg, 1962) :

$$\gamma = 1 - e^{-b} \qquad (15)$$

$$b = \frac{4 . \pi . K_d}{n . F} . r^2 . \frac{t}{v}$$

Theo các dẫn liệu của A.G.Xtromberg, mức độ tiêu hao của dung dịch có ảnh hưởng đến đặc tính của sự phụ thuộc của cường độ dòng anôt hòa tan kim loại từ hỗn hống và nồng độ của ion kim loại trong dung dịch

$$i_A = 3K_A . C_o . v . \frac{1}{r} (1 - e^{-b}) \qquad (16)$$

K_A là hằng số của dòng anôt, K_A phụ thuộc vào hệ số khuếch tán của kim loại trong hỗn hống, tốc độ thay đổi thế khi ghi cực phổ, bán kính giọt thủy ngân...

Nếu $b < 0,1$ thì $\gamma \approx b$ và phương trình trên có dạng :

$$i_A \approx \frac{12\pi}{nF} K_d . K_A . C_o . r . t \qquad (17)$$

Phương trình này đúng khi tiến hành phân tích với thể tích dung dịch lớn, thời gian điện phân ít và bán kính giọt thủy ngân nhỏ. Nồng độ các ion kim loại còn lại trong dung dịch trong trường hợp này thực tế không đổi.

Giá trị pic anôt tỉ lệ với nồng độ của ion kim loại trong dung dịch, thời gian điện phân và bán kính của thủy ngân.

Nếu $b > 3$ thì $\gamma \approx 1$, phương trình trên sẽ có dạng :

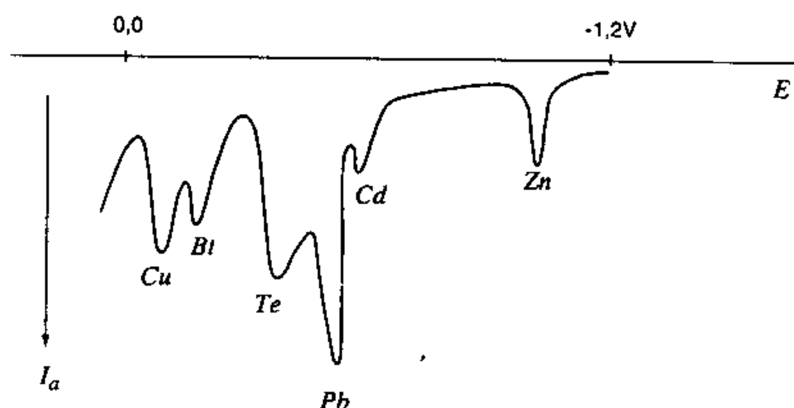
$$i_A = 3 . K_A . C_o . v . \frac{1}{r} \qquad (18)$$

Khi thể tích dung dịch nhỏ, thời gian điện phân lớn, bán kính giọt thủy ngân lớn thì cường độ dòng anôt tỉ lệ thuận với nồng độ kim loại trong dung dịch, thể tích dung dịch, tỉ lệ nghịch với bán kính giọt thủy ngân và không phụ thuộc vào thời gian điện phân. Nồng độ ion trong dung dịch khi kết thúc quá trình điện phân thường nhỏ hơn 5% so với nồng độ ban đầu.

Phương trình (16) được tuân theo đúng trong khoảng

$$0,1 < b < 3$$

– *Kĩ thuật tiến hành xác định* : Để xác định một hay một vài nguyên tố, người ta đặt vào bình điện phân một thế có giá trị cao hơn thế bán sóng của nguyên tố bị khử âm nhất là 0,2 – 0,3V. Tại thế này trong thời gian đã cho, tiến hành điện phân dung dịch thí nghiệm và thường xuyên khuấy đều dung dịch. Sau khi dung dịch không bị xáo trộn, người ta bắt đầu hòa tan anôt kim loại từ hỗn hống khi giảm đều thế xuống.



Hình 12 – Đường Von – Ampe hòa tan của một số kim loại trong nền K_2CO_3 0,1M (nồng độ của Zn^{2+}, Cd^{2+}, Bi^{3+}, Cu^{2+} là 10^{-8}M và của Te^{+} là 10^{-7}M điện phân 5 phút tại E = −1,4V so với cực calomen bão hòa, cực làm việc là giọt thủy ngân treo)

Trong phương pháp Von–Ampe hòa tan người ta nhúng vào bình điện phân chứa dung dịch phân tích 3 cực :

Cực làm việc là cực trên đó xảy ra phản ứng kết tủa chất cần phân tích dưới dạng kim loại hoặc hợp chất khó tan.

Cực so sánh, thường là một cực loại II như cực calomen hoặc cực bạc clorua. Cực so sánh có thế không đổi và phải giữ được thế của nó không đổi trong suốt quá trình làm việc, đặc biệt khi tiến hành liên tiếp các thực nghiệm trong thời gian điện phân dài. Để đảm bảo được điều đó, người ta chế tạo cực so sánh có diện tích bề mặt đủ lớn để mật độ dòng qua cực đủ nhỏ.

Cực phù trợ thường là một cực platin

Có 3 loại cực làm việc chính :

1) Cực giọt thủy ngân tĩnh dưới dạng giọt treo hoặc giọt ngồi.

2) Các loại cực rắn hình đĩa.

3) Cực màng thủy ngân được điều chế tại chỗ (in situ) trên bề mặt cực rắn đĩa.

Trong cực phổ hỗn hống người ta hay dùng nhất là cực giọt thủy ngân tĩnh. Đó là một giọt thủy ngân có kích thước nhỏ (đường kính 0,8 – 1,5mm) và bất động được treo trên một mao quản bằng thủy tinh hoặc ngồi trên một mặt thủy tinh hơi

lõm ở giữa có một đoạn nhỏ và gắn platin để dẫn điện. Để đảm bảo tính chính xác và độ lặp lại của các phép xác định, yêu cầu chủ yếu của cực giọt thủy ngân tĩnh là phải có kích thước không đổi và có độ lặp lại cao, vì sau mỗi một lần đo phải tạo một giọt khác có kích thước như giọt đã dùng trong lần đo trước. Thông thường người làm phân tích không thể chế tạo được cực giọt treo tĩnh có chất lượng cao và vì vậy chỉ các hãng mới sản xuất được cực treo tốt. Cực giọt thủy ngân tĩnh của hãng PAR (Mĩ) và cực giọt thủy ngân treo kiểu Kemula của hãng Brinkmann (Mĩ) là cực tốt nhất.

Nếu có được một cực giọt Hg tĩnh có chất lượng tốt thì việc phân tích sẽ rất thuận lợi vì :

+ Khoảng thế cho phép dùng cực thủy ngân rất rộng, xác định được một số rất lớn kim loại. Trong môi trường axit khoảng thế dùng được tốt là −0,15 đến −1,2V ; trong môi trường trung tính và kiềm khoảng thế được mở rộng nhiều : từ −0,15 đến gần −2V.

+ Thuận lợi cho việc chọn điều kiện phân tích như chọn thành phần dung dịch nền, chọn thế điện phân đặc biệt khi phân tích các kim loại trong mẫu có thành phần phức tạp vì có thể tham khảo, nghiên cứu những tài liệu rất phong phú về phân tích cực phổ để biết tính chất cực phổ của các chất khử cực khác nhau trong các nền cực phổ khác nhau.

– *Xác định nồng độ chất phân tích :* Người ta thường xác định nồng độ của kim loại trong dung dịch phân tích bằng phương pháp thêm. Khi phân tích nhiều mẫu có cùng một thành phần đôi khi người ta dùng phương pháp đường chuẩn. Cũng có những trường hợp để giảm ảnh hưởng do sự biến đổi kích thước của hạt, do sự thay đổi nhiệt độ, thời gian điện phân và các yếu tố khác... đến kết quả phân tích, có tác giả đã sử dụng chất chuẩn trong. Khi sử dụng chất chuẩn trong để tính nồng độ người ta không dùng chiều cao pic của quá trình hòa tan anôt kim loại từ hỗn hống mà dùng tỉ lệ chiều sâu giữa pic của nguyên tố cần xác định và pic của nguyên tố đưa vào trong dung dịch làm chất chuẩn trong.

c) Cực phổ xung. Những phương pháp phân cực điện cực hoạt động bằng những xung điện áp gián đoạn có biên độ và bề rộng (thời gian tồn tại) xác định gọi là những phương pháp cực phổ xung. Có hai phương pháp cực phổ xung cơ bản hiện đang sử dụng nhiều là :

– Phương pháp cực phổ xung biến đổi đều (normal pulse polarography – NPP).

– Phương pháp cực phổ xung vi phân (differential pulse polarography DPP).

Phương pháp cực phổ xung biến đổi đều (NPP). Trong phương pháp này điện cực giọt thủy ngân được phân cực bằng một điện áp một chiều chọn trước và được giữ không đổi trong suốt quá trình đó, điện áp này được gọi là điện áp khởi điểm, tương ứng với chân sóng cực phổ trong phương pháp cổ điển ; trong mỗi một chu kì giọt, điện cực được phân cực bổ xung bằng một xung vuông góc có khoảng tồn tại rất ngắn (40 đến 100ms) được đưa vào sát nút trước khi giọt rơi (hoặc chu kì kết thúc). Sau thời gian đó xung bị ngắt và thế điện cực trở về điện áp khởi điểm. Biên độ xung tăng dần theo thời gian với một tốc độ đều giống như tốc độ quét thế tuyến

tính trong cực phổ cổ điển. Cường độ dòng cực phổ được ghi theo một trong 2 cách sau :

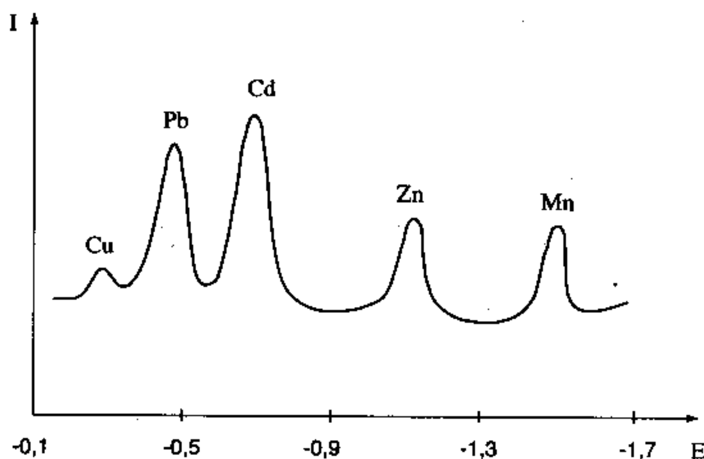
Ghi cường độ dòng cực phổ tại một thời điểm xác định sau khi đặt xung (thường là 17ms trước khi ngắt xung), phần lớn các máy hiện có thực hiện theo cách này.

Ghi cường độ dòng cực phổ 2 lần, lần thứ nhất trước khi đặt xung và lần thứ hai sau khi đặt xung (trong 2 khoảng thời gian giống nhau : 17ms trước khi đặt xung và 17ms trước khi ngắt xung). Cách này cho hiệu quả tốt hơn nhưng khá phức tạp.

Phương pháp NPP có thể đạt độ nhạy 2.10^{-7}M cho cả hai quá trình thuận nghịch và không thuận nghịch.

Phương pháp cực phổ xung vi phân (DPP). Trong phương pháp này, điện cực được phân cực bằng một điện áp một chiều biến thiên tuyến tính với một tốc độ chậm, nhưng vào cuối mỗi chu kì giọt (giọt rơi cưỡng bức nhờ một bộ gõ) trên khung điện áp biến đổi một chiều, người ta đặt thêm một xung vuông góc với biên độ thay đổi trong khoảng 10 – 100mV và độ dài xung từ 40 – 100ms. Cường độ dòng cực phổ được ghi hai lần, lần một tại thời điểm τ_1, thường là trong 17ms trước khi nạp xung và lần thứ hai tại thời điểm τ_2, thường là 17ms trước khi cắt xung. Hai giá trị này được gửi vào bộ so sánh và kết quả ra bộ ghi là hiệu số của 2 giá trị đó. Dạng đường cực phổ có dạng pic. Ưu điểm nổi bật của phương pháp DPP là có độ nhạy cao với các hợp chất vô cơ và hữu cơ ở các quá trình thuận nghịch và không thuận nghịch và quan trọng hơn là đường I – E có dạng đỉnh cực đại, sau mỗi một đỉnh dòng điện lại trở về trạng thái nền, do đó phương pháp có độ phân giải rất cao, có thể đạt đến 50.000 (ví dụ có thể ghi 10^{-7}M Cd^{2+} khi có mặt 5.10^{-3}M Cu^{2+} mà không cần tách). Điều này cho phép phân tích trực tiếp nhiều chất trong cùng một dung dịch.

Một hướng rất có triển vọng là sử dụng DPP kết hợp với von–ampe hòa tan, ví dụ có thể xác định 10^{-9}M Pb^{2+} với thời gian không quá 3 phút. Có thể nói, hiện nay DPP là phương pháp cực phổ hoàn chỉnh nhất vì phương pháp có độ nhạy cao, độ chọn lọc cao và có tính vạn năng đối với hầu hết các đối tượng phân tích.



Hình 13 – Dạng đường DPP của một nguyên tố trong NaCl

5. Cực chọn lọc ion

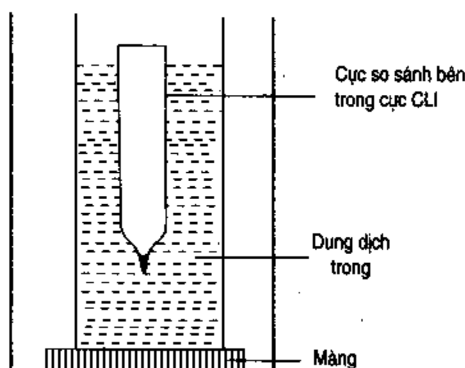
Trong khoảng 15 năm trở lại đây phép đo ion đã được sử dụng rộng rãi trong thổ nhưỡng, nông hóa, thủy hóa và một số lĩnh vực khác để xác định hoạt độ của các cation, anion trong đất, trong nước, trong các đối tượng sinh học và trong khí quyển. Điều này liên quan trước hết với sự ra đời của hàng loạt các cực chọn lọc ion có độ chọn lọc cao.

Phép đo ion cho phép xác định trực tiếp hoạt độ khoảng 30 cation và anion khi sử dụng các phản ứng hóa học, sự tạo phức, kết tủa...

Phân tích với việc sử dụng các cực chọn lọc ion (CLI) có một loạt các ưu điểm. Tất cả các phép đo đều thực hiện nhanh và trong nhiều trường hợp gần như trong giây lát, vì vậy cực chọn lọc ion có thể sử dụng khi nghiên cứu động học của các quá trình xảy ra trong đất, trong tự nhiên, trong các loại nước thải và nước kĩ thuật. Trong đa số các trường hợp mẫu không cần phải xử lí trước (lọc, chiết, cất...) vì vậy việc phân tích dễ dàng tự động hóa. Cực chọn lọc ion cho phép xác định hoạt độ của các ion riêng biệt không chỉ trong dung dịch, trong huyền phù mà thậm chí ngay cả mẫu ở trạng thái bột nhão.

Nhược điểm của phương pháp này là có một số điện cực có độ chọn lọc không cao. Trong một số trường hợp riêng cần phải biết trước thành phần tương đối của mẫu nghiên cứu để ngăn ngừa ảnh hưởng của các ion cản. Tuy vậy phương pháp này cho phép xác định nhanh hoạt độ của một số chỉ tiêu nông hóa quan trọng như H^+, K^+, Na^+, Ca^{2+}, NH_4^+, NO_3^-, Cl^-... trong các điều kiện ngoài đồng ruộng.

a) Cực chọn lọc ion và các nguyên tắc chính khi sử dụng cực. Cực chọn lọc ion là loại cực chỉ thị trong phép đo thế, được chế tạo từ loại màng đặc biệt, thế của cực phụ thuộc một cách chọn lọc vào hoạt độ của ion cần xác định có trong dung dịch nghiên cứu. Nguyên tắc cấu tạo của cực như sau :



Hình 14 – Cấu tạo của cực chọn lọc ion

Một cực chọn lọc ion gồm có thân cực, bên trong chứa dung dịch chất điện li có thành phần và nồng độ cố định, một cực so sánh ngâm trong dung dịch này, cuối cực là màng chọn lọc ion (có thể là màng rắn đồng thể hoặc dị thể hoặc đơn tinh thể, màng thủy tinh hoặc màng lỏng).

Giá trị hoạt độ a và nồng độ C được tính theo phương trình :

$$a = \gamma . C \qquad (19)$$

γ là hệ số hoạt độ có thể tìm thấy bằng thực nghiệm hay bằng cách tính theo công thức :

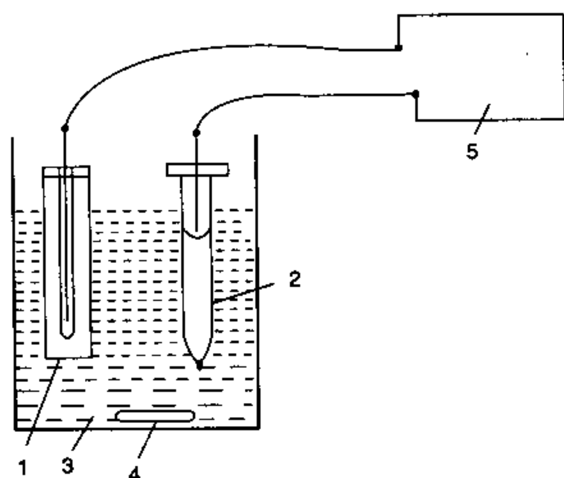
$$\lg\gamma = \frac{0,51 \cdot Z^2 \cdot \sqrt{\mu}}{1 + \sqrt{\mu}} \quad (20)$$

Z là điện tích ion

μ là lực ion của dung dịch có thể tính theo phương trình :

$$\mu = \frac{\sum Ci\,Zi^2}{2} \quad (21)$$

Để đo hoạt độ của các ion trong đất và trong các đối tượng nghiên cứu khác người ta cho dung dịch đó vào cốc, nhúng vào đấy hai cực : một cực là cực chọn lọc ion (cực chỉ thị) ; cực kia là cực so sánh. Hai cực được nối vào máy đo thế (hình 15).



Hình 15 – Cách đo hoạt độ của các ion

1 – Cực chọn lọc ion (cực chỉ thị)

2 – Cực so sánh

3 – Dung dịch thí nghiệm

4 – Que khuấy

5 – Máy đo thế.

Cực chỉ thị cần phải chuẩn hóa lại trước khi dùng bằng cách đo thế của một vài dung dịch chuẩn đã biết trước hoạt độ của ion cần xác định ; sau đó xây dựng đồ thị chuẩn E và pX : E là thế đo được, pX là âm logarit hoạt độ của ion cần xác định X. Dựa vào đường chuẩn này để kiểm tra cực chỉ thị và dựa vào giá trị thế đo được ở dung dịch thí nghiệm sẽ tìm được hoạt độ của ion cần xác định.

– *Các điện cực chỉ thị.* Điện cực chỉ thị dùng để đo chọn lọc hoạt độ ion cần xác định trong môi trường nghiên cứu. Khi nhúng điện cực vào trong dung dịch, huyền phù, bột nhão... trên bề mặt của điện cực sẽ xảy ra phản ứng, do đó cực chỉ thị sẽ xuất hiện một thế.

Bước nhảy thế giữa cực và môi trường trong trường hợp đơn giản tuân theo phương trình Ness :

$$E = E_o + 2,303.\frac{RT}{nF}\ln a_x \quad (22)$$

E_o : thế điện cực trong môi trường với hoạt độ của các ion a = 1 ; nghĩa là điện cực chuẩn.

R = hằng số khí

T : nhiệt độ tuyệt đối của môi trường (^oK)

F : số Faraday.

n : sự thay đổi điện tích của ion cần xác định do kết quả của phản ứng điện hóa.

a_x : hoạt độ của ion X trong môi trường nghiên cứu.

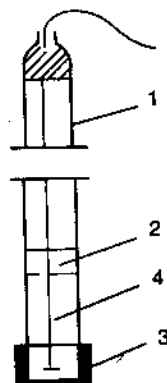
Ở 20°C, phương trình có dạng :

$$E = E_o - \frac{0,058}{n} pX \text{ (với } pX = -lgX) \quad (23)$$

Thế của cực chỉ thị phụ thuộc tuyến tính vào pX cho phép chúng ta sử dụng cực đó trong thực tiễn phân tích.

Sau đây giới thiệu một vài loại điện cực chỉ thị thường gặp :

+ *Điện cực màng kali.* Điện cực màng kali để xác định hoạt độ của ion K^+, được cấu tạo từ một ống thủy tinh hoặc ống nhựa, phần cuối của ống là một màng mỏng chọn lọc ion, bên trong ống được đổ đầy dung dịch KCl 0,1M, điện cực so sánh bạc clorua được nhúng trong dung dịch này.



Hình 16 – Điện cực màng kali

1– Ống thủy tinh hoặc ống nhựa

2 – Dung dịch KCl

3 – Màng

4 – Điện cực so sánh bên trong bạc clorua

Điện cực màng kali nhạy với ion kali trong phạm vi xác định : với điện cực EM–K–01 của Liên Xô (cũ) giới hạn này là từ 10^{-1} đến 1.10^{-4} M/l. Khi có mặt Na^+ với tỉ lệ $K^+ : Na^+ = 1 : 20$ và NH_4^+ với tỉ lệ $K^+ : NH_4^+ = 1 : 200$ thì các ion Na^+, NH_4^+ sẽ cản trở phép xác định K^+ bằng điện cực EM – K – 01.

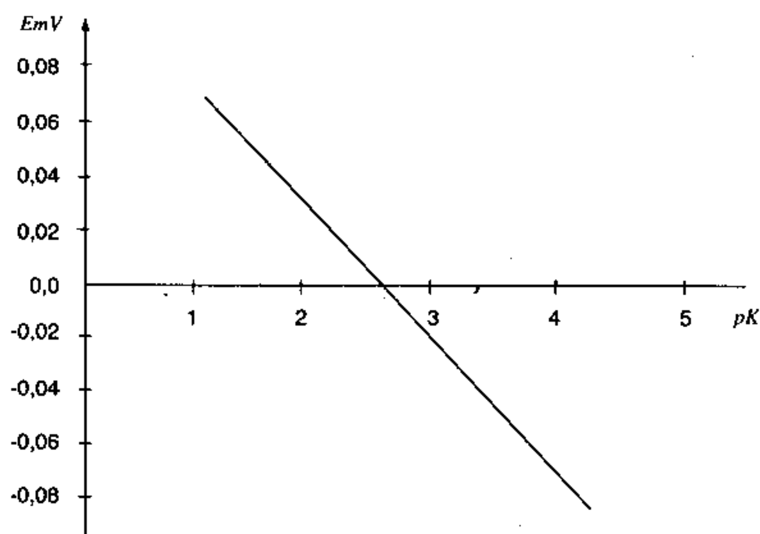
Trước khi bắt đầu làm việc, cần rửa khoang bên trong của điện cực hai lần bằng nước cất tại nhiệt độ phòng và hai lần bằng dung dịch KCl 0,1M. Rót vào điện cực sau khi đã rửa 1,5 – 2,5ml KCl 0,1M rồi nhúng điện cực so sánh bên trong vào.

Để điện cực vào dung dịch KCl 0,1M ít nhất là một ngày đêm và sau đó vẫn giữ trong dung dịch này. Dùng dung dịch KCl chuẩn để kiểm tra điện cực sau khi đã chuẩn bị xong.

Nồng độ KCl (M/l)	$\gamma\pm$	a_{K^+}	p_K
0,2000	0,718	0,1436	0,84
0,1000	0,770	0,0770	1,11
0,0500	0,816	0,0408	1,39
0,0100	0,902	0,0090	2,04
0,0050	0,927	0,0046	2,34
0,0010	0,965	0,0010	3,02
0,0005		0,0005	3,30
0,0001		0,0001	4,00

Muốn vậy cần thiết lập một mạng đo, điện cực K được nhúng trong dung dịch KCl chuẩn ; điện cực so sánh được nhúng trong dung dịch KCl bão hòa. Giữa hai dung dịch này được nối bằng một cầu dẫn làm đầy bằng aga đã trộn với litiaxetat. Đo trị số sau khi nhúng điện cực vào dung dịch qua 5 phút.

Nếu điện cực hoạt động tốt, tiến hành đo thế của dung dịch thí nghiệm. Dựa vào thang chuẩn giữa thế và p_K tính ra được hoạt độ của K^+ trong dung dịch nghiên cứu.



Hình 17 – Sự phụ thuộc của thế mạch đo khi dùng điện cực màng K vào giá trị p_K

+ *Điện cực màng nitrat.* Điện cực màng nitrat EM-NO_3-01 do Liên Xô (cũ) chế tạo có cấu tạo tương tự như điện cực kali, chỉ khác là màng được làm đầy bằng ion NO_3^-. Khoang bên trong của điện cực chứa dung dịch 0,1M/l KNO_3 và 0,005 M/l KCl, sau đó nhúng điện cực so sánh bên trong vào đây. Điện cực so sánh bên ngoài thường dùng là điện cực calomen hay điện cực bạc clorua.

Thế của điện cực màng nitrat trong giá trị pH từ 2 – 9 và hoạt độ NO_3^- từ 0,001 đến 1,0 M/l tuân theo phương trình :

$$E = E_o - 0,058\ p_{NO_3^-} \qquad (24)$$

Các anion khác như Cl^-, HCO_3^-, SO_4^{2-} với tỉ lệ : NO_3^- : Cl^- = 1 : 1 ; NO_3^- : HCO_3^- = 1 : 5 ; NO_3^- : SO_4^{2-} = 1 : 5 sẽ cản trở việc xác định NO_3^-.

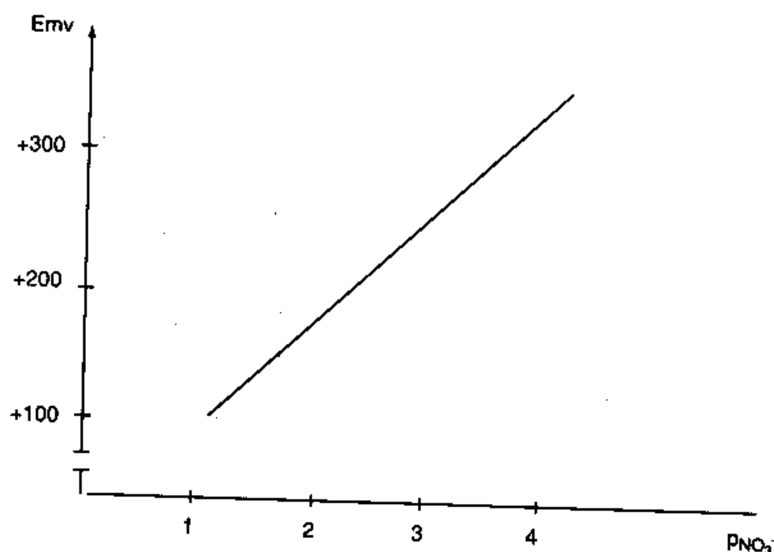
Trước khi dùng điện cực nitrat mới, cần phải rửa khoang bên trong cực 2 lần bằng nước cất và 2 lần bằng dung dịch KNO_3 và KCl với nồng độ đã nêu ở trên, sau đó rót vào 1,5 – 2,5ml dung dịch này rồi nhúng điện cực so sánh bên trong vào.

Điện cực sau khi chuẩn bị xong được giữ qua một ngày đêm trong dung dịch KNO_3 0,1M và sau này vẫn giữ trong dung dịch đó.

Sau khi chuẩn bị điện cực xong, tiến hành kiểm tra sự phụ thuộc thế của cực vào giá trị $p_{NO_3^-}$. Thiết lập mạng đo gồm điện cực so sánh và điện cực nitrat đều nhúng trong dung dịch $NaNO_3$ chuẩn. Sau 5 phút ghi trị số trên máy đo.

Nồng độ $NaNO_3$ (M/l)	$\gamma\pm$	$a_{NO_3^-}$	$p_{NO_3^-}$
0,1000	0,765	0,0765	1,11
0,0500	0,812	0,0406	1,30
0,0100	0,900	0,0090	2,04
0,0050	0,926	0,0046	2,34
0,0010	0,964	0,0010	3,02
0,0005	0,975	0,0005	3,30
0,0001	1,000	0,0001	4,00

Xây dựng đồ thị theo kết quả đo thế trong 3–4 dung dịch chuẩn. Khi thay đổi giá trị $p_{NO_3^-}$ theo đơn vị thì độ dốc của đồ thị là 58mV.



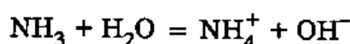
Hình 18 – Sự phụ thuộc của thế của mạch đo khi dùng điện cực màng nitrat vào giá trị $p_{NO_3^-}$

– *Các điện cực nhạy với khí*. Điện cực nhạy với khí đầu tiên được xem như là bộ thu để xác định thế trực tiếp đã được sử dụng là điện cực dùng để xác định CO_2 trong không khí. Hiện nay đã có các điện cực nhạy với khí để xác định amoniac,

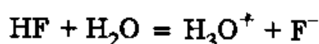
SO_2, H_2... và các chất khí khác. Nguyên tắc làm việc của các điện cực này dựa trên sự chỉ thị của ion được tạo thành do phân tử khí phản ứng với nước :



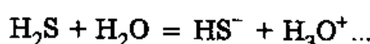
$$CO_2 + H_2O = HCO_3^- + H^+$$



$$NH_3 + H_2O = NH_4^+ + OH^-$$



$$HF + H_2O = H_3O^+ + F^-$$



$$H_2S + H_2O = HS^- + H_3O^+ ...$$

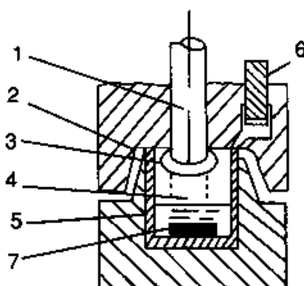
Bởi vì thế của điện cực nhạy với khí được xác định bằng phương trình :

$$E = E_o + \frac{RT}{nF} \lg C_{khí} \qquad (25)$$

nên càng có khả năng xác định hàm lượng khí trong mẫu thông qua việc xác định thế.

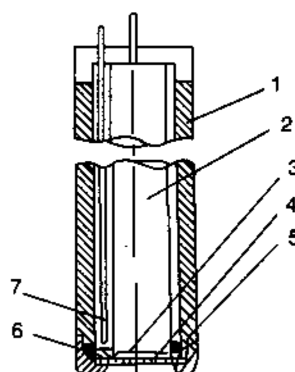
Khó khăn cơ bản đối với các điện cực nhạy với khí là việc xây dựng những điều kiện để thiết lập nhanh cân bằng giữa chất khí và chất lỏng và việc chọn điện cực bên trong để khí khuếch tán và tham gia thiết lập cân bằng tạo nên những ion được xác định bằng điện cực chọn lọc ion.

Cấu tạo của các điện cực nhạy với khí



Hình 19a – Điện cực với khoảng trống khí

1. Điện cực chọn lọc ion
2. Chất điện li chuẩn
3. Màng điện cực chọn lọc ion
4. Khe hở không khí
5. Điện cực so sánh
6. Dung dịch phân tích
7. Máy khuấy



Hình 19b – Điện cực với màng khí thấm qua

1. Vỏ điện cực
2. Điện cực chọn lọc ion
3. Màng chỉ thị
4. Dung dịch chất điện giải
5. Màng khí thấm qua
6. Lớp đệm
7. Điện cực so sánh

Đặc tính của một vài điện cực nhạy với khí

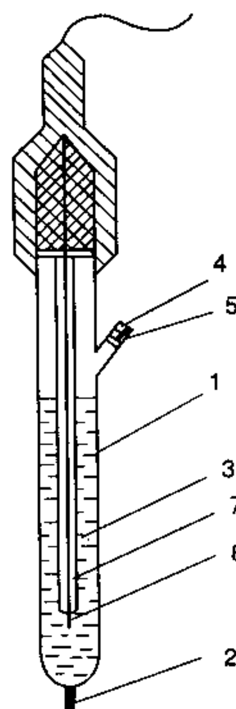
Khí xác định	Nguyên tố nhạy	Chất điện li bên trong	Giới hạn dưới của phép đo	Góc nghiêng	pH của chất điện li bên trong	Chất cản trở	Ứng dụng
CO_2	H^+	$NaHCO_3$ 0,01M	$\approx 10^{-5}$	+60	< 4		
NH_3	H^+	NH_4PiC 0,01M	$\approx 10^{-6}$	−60	> 11		
Et_2NH	H^+	Et_2NH_2Cl 0,01M	$\approx 10^{-5}$	−60	> 11	NH_3	
SO_2	H^+	$NaHSO_3$ 0,1M	$\approx 10^{-6}$	+60	HSO_4^-	Cl_2	Khí thải, thực phẩm,
			$\approx 10^{-4}$		đệm	NO_2	vang ; chất đốt
NO_2	H^+	$NaNO_2$ 0,02M	5.10^{-7}	+60	Đệm xitrat	SO_2	Khí thải, không khí,
						CO_2	nitrua trong thực phẩm.
H_2S	S^{2-}	Đệm xitrat	$\approx 10^{-8}$	−30	<5	O_2	Phân tích đồ uống,
							sự lên men.
HF	F^-	H^+ 1M	$\approx 10^{-3}$	−60	<2		
C	C	Đệm HSO_4^-	$\approx 5.10^{-3}$	−60	<2		Sự tinh luyện.

Các điện cực nhạy với khí hiện nay được sử dụng để xác định các ion nitrat trong đất, trong nước biển với việc khử trước NO_3^- đến amoniac ; điện cực loại này còn dùng để xác định SO_2 trong các mẫu sinh học, để nghiên cứu thành phần các khí thoát ra trong các quá trình tạo thành đất, trong quá trình hô hấp và dinh dưỡng của thực vật ; ngoài ra còn sử dụng điện cực loại này để xác định các chất có hoạt tính sinh học.

– *Các điện cực so sánh.* Điện cực so sánh hiện nay thường được sử dụng cùng với các điện cực chọn lọc ion là điện cực bạc clorua. Đây là điện cực thuận tiện, đơn giản, bền và không đòi hỏi một sự bảo quản nào ngoài việc làm đầy bên trong cực bằng dung dịch KCl. Điện cực bạc clorua có vỏ làm bằng thủy tinh, cuối cực có sợi amiăng để tiếp xúc giữa điện cực với môi trường bên ngoài. Bên trong ống có dung dịch kali clorua, dây dẫn bạc có bề mặt xốp đã được phủ bằng kết tủa bạc clorua.

Thế của điện cực được xác định theo nồng độ dung dịch KCl. Khi nồng độ KCl không thay đổi thì giá trị thế của cực cũng không thay đổi.

Khi làm ở ngoài thực địa nên dùng dung dịch KCl bão hòa.



Hình 20 – Điện cực bạc clorua
1. Vỏ điện cực ; 2. Sợi amiăng ;
3. Dung dịch KCl ; 4. Lỗ để rót dung dịch KCl ; 5. Nút cao su ;
6. Dây dẫn bằng bạc ;
7. Lớp bạc clorua.

Thế của điện cực bạc clorua :

Dung dịch KCl	*E(V) ở 25°C*
Dung dịch KCl bão hòa	+ 0,202 (20°C)
KCl 1,0N	+ 0,238
KCl 0,1N	+0,290
HCl 0,1N	+ 0,289
HCl 1,0N	+ 0,218

– *Cầu dẫn điện.* Cầu dẫn điện dùng để thiết lập mạng điện với các cực chọn lọc ion, là một ống thủy tinh hình chữ U, đường kính bên trong 3 – 5 mm ; dài khoảng 5 – 6cm ; được nạp đầy aga trong dung dịch một muối bão hòa nào đấy (KCl, KNO_3, $LiCH_3COO$...). Khi dùng cực chọn lọc ion ka li, người ta nạp vào trong cầu dẫn điện dung dịch litiaxetat còn khi dùng cực bạc clorua, người ta nạp dung dịch kali nitrat.

Để chuẩn bị cầu dẫn điện lấy 3 gam aga đã nghiền nhỏ cho vào trong cốc, rót vào đấy 100ml nước cất và giữ qua đêm. Sau đó đặt lên bếp, đun cẩn thận và thêm từ từ 10 gam muối cần thiết, khuấy đều bằng thìa thủy tinh đến khi tan hoàn toàn. Đun hỗn hợp trên ở nhiệt độ 50° – 60°C rồi rót cẩn thận hỗn hợp vào ống chữ U ; giữ cho đến khi hỗn hợp nguội đi. Cần chú ý rằng trong quá trình cho hỗn hợp vào và giữ hỗn hợp nguội không để tạo nên bọt khí trong đó.

Giữ cầu dẫn điện trong dung dịch muối bão hòa (muối nạp vào trong ống). Trước khi dùng, dùng nước cất rửa qua cầu dẫn điện, dùng giấy lọc lau khô. Một đầu cầu được để trong dung dịch nghiên cứu còn đầu kia nhúng vào trong dung dịch KCl bão hòa có cắm điện cực so sánh.

b) Sử dụng các điện cực chọn lọc ion trong điều kiện ngoài đồng. Các điện cực chỉ thị làm bằng thủy tinh và các điện cực chọn lọc ion bằng màng có thể dùng để xác định hoạt độ của các ion trong các điều kiện ngoài đồng, nghĩa là xác định trực tiếp trong đất nếu độ ẩm của đất không nhỏ hơn 15%, trong nước thiên nhiên, nước thải, nước công nghiệp, nước tưới... Khi làm việc ngoài thiên nhiên, nguồn điện cho máy là pin.

Trước khi ra thực địa cần kiểm tra các điện cực chỉ thị theo các dung dịch chuẩn. Tất cả các điện cực chỉ thị, trừ điện cực chọn lọc ion bạc clorua, đều phải nhúng trong dung dịch bởi vì nếu màng bị khô thậm chí trong thời gian ngắn cũng có tác hại đến cực, làm rối loạn chức năng của cực.

Cần xây dựng đồ thị chuẩn trước tại nhiệt độ tiến hành phép đo ở ngoài thực địa.

Phân tích nước trong điều kiện ngoài thực địa tiến hành tương tự như phân tích dung dịch trong phòng thí nghiệm.

Khi đo hoạt độ của các ion trong đất, điện cực chỉ thị làm bằng thủy tinh và điện cực so sánh được cắm vào đất với khoảng cách chính xác 5 – 6cm. Khi dùng điện cực màng cần đào lỗ trước với độ sâu bằng độ sâu của phép đo và đường kính lỗ tương ứng với đường kính của cực. Sau khi nhúng các điện cực vào trong đất cần ấn nhẹ để làm chặt xung quanh cực. Sau 15 – 30 phút, tùy thuộc vào độ ẩm của đất, tiến hành đo hoạt độ ion cần xác định.

Chương 4

PHÂN TÍCH CÁC TÍNH CHẤT VẬT LÍ CỦA ĐẤT

1. Xác định thành phần cơ giới đất

Đất là một hệ thống dị thể gồm những phần tử khoáng, khoáng – hữu cơ và hữu cơ có kích thước khác nhau, từ phân tử đến những nguyên tố cơ học có kích thước lớn như sét, limôn, cát và giăm cuội. Trong nghiên cứu đất, nhiều khi cần phải xác định kích thước của những hợp phần này về mặt số lượng và chất lượng.

Thành phần cơ giới có ý nghĩa quan trọng, nó đặc trưng cho nguồn gốc phát sinh của đất, các tính chất đất và độ phì của đất. Việc phân loại đất về cơ bản cũng dựa vào thành phần cơ giới của đất. Ví dụ, đất cát, cát pha, đất thịt, đất sét ... Đối với dinh dưỡng của cây trồng thì thành phần cơ giới đất lại càng có vai trò to lớn, đất có thành phần cơ giới nặng, giữ được nhiều chất dinh dưỡng hơn. Nhiều tính chất vật lí của đất như độ xốp, độ trữ ẩm, tính thấm, khả năng giữ khí, giữ nhiệt ... đều phụ thuộc vào thành phần cơ giới.

a) Phân loại những nguyên tố cơ học đất. Nguyên tố cơ học của đất tồn tại ở 3 dạng : khoáng, hữu cơ và hữu cơ – khoáng (còn gọi là humat). Trong thổ nhưỡng học có nhiều bảng phân loại nguyên tố cơ học đất theo độ lớn của chúng và bảng phân loại của Katrinski được thừa nhận rộng rãi nhất. Trong bảng phân loại này tác giả đã chia thành : đá vụn, sỏi, cuội, cát, limôn và sét.

PHÂN LOẠI NHỮNG NGUYÊN TỐ CƠ HỌC CỦA ĐẤT
(theo Katrinski)

Đường kính (mm)	Tên gọi
> 3	Phần đá vụn của đất
3–1	Sỏi, cuội
1 – 0,50	Cát thô
0,5 – 0,25	Cát trung bình
0,25 – 0,05	Cát mịn
0,05 – 0,01	Limôn thô
0,01 – 0,005	Limôn trung bình
0,005 – 0,001	Limôn mịn
< 0,001	Sét
> 0,01	Cát vật lí
< 0,01	Sét vật lí

Tất cả những phần tử có kích thước lớn hơn 1mm gọi là "phần xương" của đất, những phần tử nhỏ hơn 1mm gọi là "phần mịn" của đất. N.M. Xibicxep (1899) phân chia những phần tử đất thành "cát vật lí" – tức là những cấp hạt lớn hơn 0,01mm và "sét vật lí" – những cấp hạt nhỏ hơn 0,01mm. Những khái niệm này hiện nay được sử dụng rộng rãi trong phân loại đất theo thành phần cơ giới.

b) Chuẩn bị đất để phân tích thành phần cơ giới đối với những đất chứa cacbonat. Đối với nhóm đất này việc chuẩn bị đất để phân tích thành phần cơ giới rất phức tạp, người ta thường sử dụng những dung dịch muối khác nhau như : natri oxalat ($Na_2C_2O_4$) ; pirophotphat ($Na_4P_2O_7$) và hecxametaphotphat ($Na_6P_6O_{18}$). Tùy thuộc vào hàm lượng cacbonat và dung tích hấp phụ của đất mà sử dụng $Na_2C_2O_4$ 0,5N với lượng khác nhau. Việc sử dụng các dung dịch muối natri để xử lí mẫu đất là để đẩy những cacbonat của đất dưới dạng các muối không tan, do đó trong đất sẽ được hình thành những nguyên tố cơ học mới. Những hợp chất mới này là (Ca, Mg)C_2O_4 ; (Ca_2, Mg_2)P_2O_7 ; (Ca_3, Mg_3)P_6O_{18} ; $Na_2Ca_2(PO_3)_6$. Trong thực tế việc xử lí đất bằng những muối kiềm trên đây thường được kết hợp với phương pháp cơ học, nghĩa là nghiền, tán đất.

P.F. Menhicôp (1952) đề nghị phương pháp pirophotphat như sau : Cho từ từ dung dịch pirophotphat 5% vào mẫu đất phân tích đến trạng thái sền sệt. Đối với đất mặn và đất cacbonat có thành phần cơ giới nặng thì sử dụng từ 20–25ml cho 10g đất, còn đối với đất cát pha và đất cát thì sử dụng 15ml cho 15g đất. Đối với đất không mặn và đất không chứa cacbonat có thành phần cơ giới nặng thì sử dụng 5ml ; đất thịt, cát pha và cát thì sử dụng 3ml cho 10g đất. Mẫu đất được nhào trộn trong 20 phút, sau đó dùng chày sứ có bịt đầu cao su để nghiền, tán đất trong 5 phút và đổ vào cốc. Vừa nghiền tán vừa gạn cho đến khi xuất hiện nước trong khi đất lắng. Cho đất qua rây kích thước 0,1 hoặc 0,25mm vào ống đong có dung tích 1 lít. Thêm nước vào ống đong cho đến mức 1 lít và phân tích thành phần cơ giới theo phương pháp pipet của Katrinski.

Phương pháp hecxa – metaphotphat để xử lí mẫu đất : Lấy khoảng 300g đất, nếu là đất mặn thì trước hết phải loại clo bằng cách rửa đất qua giấy lọc trên phễu, dùng nước cất rửa nhiều lần cho đến khi hết ion clo (dùng $AgNO_3$ 5% trong môi trường được axit hóa bằng HNO_3 10% để thử phản ứng clo). Đất sau khi rửa sạch đem phơi ở trong phòng đến trạng thái khô không khí, rây qua rây 1mm rồi lấy 20g để phân tích.

Dung dịch dùng để xử lí mẫu đất được chuẩn bị như sau : lấy 3,7g $Na_6P_6O_{18}$ + 7,94g Na_2CO_3 hòa tan trong 1 lít nước. Natri cacbonat thúc đẩy sự thủy phân của hecxametaphotphat thành octophotphat. Lấy 20ml dung dịch này thêm vào mẫu đất đã được rửa (nếu là đất mặn) và 10ml đối với đất không mặn, dùng đũa thủy tinh đầu có gắn cao su khuấy cẩn thận và sau khoảng 15–20 phút dùng nước cất chuyển dần đất sang bình tam giác dung tích 250ml.

Đun dung dịch huyền phù này 1 giờ, sau đó chuyển đất vào ống đong có dung tích 1 lít qua rây cỡ 0,1mm, cần cọ xát nhẹ và rửa để không cho các phần tử sét dính bám vào. Dung dịch đất trong ống đong ở trạng thái huyền phù, và xảy ra hiện tượng tụ keo. Nếu quá trình tụ keo xảy ra chậm thì có thể thêm một ít dung dịch xử lí vào dung dịch huyền phù. Trường hợp quá trình tụ keo xảy ra nhanh thì cẩn thận gạn đổ phần nước trong và đổ thêm nước cất cùng với một phần dung dịch xử lí.

c) *Nguyên tắc và kĩ thuật phân tích thành phần cơ giới đất.* Các phương pháp phân tích thành phần cơ giới đất bao gồm : phương pháp ngoài đồng ruộng, phương

pháp rây, phương pháp trong môi trường nước (phương pháp lắng gạn, phương pháp tỉ trọng kế, phương pháp pipet).

– *Phương pháp ngoài đồng ruộng* (xác định nhanh, không có dụng cụ)

Phương pháp ướt : Tẩm ướt mẫu đất rồi dùng hai lòng bàn tay vê thành sợi dài độ 5 - 6cm. Kĩ thuật tẩm ướt đất cần chú ý vừa đủ, không khô quá và không nhão quá, nghĩa là độ ẩm lúc này tương ứng với "giới hạn chảy dưới". Sau khi vê thành sợi, tiếp tục uốn thành vòng tròn. Sự thể hiện hình dạng của vòng tròn tương ứng với thành phần cơ giới đất được minh họa ở hình 21.

Thành phần cơ giới	
Cát	
Vê thành phần đoạn rời rạc – cát pha	
Bị đứt quãng khi vê tròn – thịt nhẹ	
Có thể vê tròn, nhưng khi khoanh tròn bị đứt quãng – thịt trung bình	
Có thể vê tròn, nhưng khi khoanh tròn có những khe nứt – thịt nặng.	
Vê tròn, khi khoanh tròn không bị nứt – sét.	

Hình 21 – Biểu mẫu hướng dẫn xác định thành phần cơ giới ngoài đồng ruộng

Phương pháp này nếu được thực hiện cẩn thận, cũng cho những kết quả tốt, gần đúng với kết quả phân tích trong phòng.

– *Phương pháp phân tích thành phần cơ giới trong môi trường nước đứng yên tĩnh (phương pháp pipet của Katrinski–Gluskop).* Phương pháp này do Gluskop đề xuất năm 1912. Đến năm 1922, Robinson đề nghị dùng ống hút với thể tích 25ml để lấy dung dịch huyền phù, cho nên còn được gọi là ống hút Robinson hay pipet. Năm 1930, tại hội nghị quốc tế thổ nhưỡng, phương pháp này đã được công nhận là phương pháp tiêu chuẩn để xác định thành phần cơ giới đất và được sử dụng rộng rãi ở nhiều nước trên thế giới.

Trình tự phân tích : Mẫu đất phân tích sau khi phơi trong phòng đến trạng thái "khô không khí", dùng cối chày sứ giã đất và rây qua rây cỡ 1mm. Trộn đều, lấy 3 mẫu để phân tích theo các yêu cầu :

	Đất thịt và thịt nặng (g)	Đất cát và cát pha (g)
– Để xác định độ hút ẩm không khí (1)	4 – 5	10
– Để xác định lượng tiêu hao khi xử lí bằng HCl (2)	10 – 15	20 – 30
– Để chuẩn bị dung dịch huyền phù (3)	10 ÷ 15	20 – 30

Lượng đất lấy để phân tích nhiều hay ít tùy thuộc vào đặc tính của đất, đất có thành phần cơ giới càng nhẹ thì lượng đất lấy để phân tích càng nhiều và ngược lại.

Mẫu đất số 2 và 3 cho vào 2 bát sứ và kiểm tra mức độ chứa cacbonat của đất bằng cách cho nhỏ giọt HCl 10% vào mẫu. Nếu đất có cacbonat thì xuất hiện bọt khí CO_2 bay ra và lúc này cần tiếp tục xử lí bằng dung dịch HCl 0,2N cho đến khi không thấy xuất hiện bọt CO_2. Việc phá hủy cacbonat khi phân tích thành phần cơ giới đất là cần thiết vì Ca và Mg trong đất có vai trò chất dính kết, chúng liên kết các nguyên tố cơ học lại với nhau tạo thành những đoàn lạp có kích thước lớn hơn.

Tiếp tục đổ HCl 0,2N vào mẫu đất, dùng đũa thủy tinh khuấy, để lắng một thời gian rồi gạn phần nước trong ở bát sứ theo đũa thủy tinh qua phễu và lọc. Hai mẫu đất được xử lí song song cho đến khi nhỏ HCl 0,2N không xuất hiện bọt khí thì ngừng.

Sau khi phá hủy cacbonat, dùng dung dịch HCl 0,05N chuyển dần mẫu đất ở bát sứ lên giấy lọc đặt trong phễu. Mẫu đất dùng để xác định lượng tiêu hao khi xử lí HCl cần chuyển lên giấy lọc đặt trong phễu nhưng đã cân trước khối lượng của giấy lọc. Đất trên phễu tiếp tục được rửa bằng HCl 0,05N cho đến khi hết phản ứng với Ca^{2+}. Để thử phản ứng, dùng ống nghiệm hứng một ít dịch lọc, thêm 2 giọt chỉ thị phenolphtalein và dùng NH_4OH 10% để trung hòa theo từng giọt cho đến khi xuất hiện màu hồng, phản ứng lúc này hơi kiềm. Thêm vài giọt CH_3COOH 10% để axit hóa dung dịch, thêm vài giọt $(NH_4)_2C_2O_4$ 4% và đun đến sôi. Nếu có Ca thì sẽ xuất hiện kết tủa tinh thể CaC_2O_4 rất rõ. Nếu đã hết Ca^{2+} (không có kết tủa) chuyển hết đất lên phễu bằng dung dịch HCl 0,05N. Tiếp tục rửa mẫu đất trên phễu lọc bằng nước cất cho đến khi hết phản ứng với clo. Để thử phản ứng, dùng ống nghiệm hứng một ít dịch lọc, dùng vài giọt HNO_3 10% để axit hóa dung dịch, sau đó thêm vài giọt $AgNO_3$ 5%, nếu còn clo sẽ xuất hiện kết tủa màu trắng AgCl.

Đối với những mẫu đất không có cacbonat thì dùng ngay HCl 0,05N để xử lí, sau đó cũng chuyển qua phễu lọc, rửa cho đến khi hết canxi và clo như trình tự trên.

Mẫu đất dùng để tính lượng tiêu hao khi xử lí HCl, sau khi đã rửa, đất và giấy lọc được cho vào trong cốc sứ hoặc nhôm đã cân trước khối lượng, sấy khô ở 105°C đến khối lượng không đổi rồi cân. Căn cứ vào hiệu số khối lượng, xác định lượng tiêu hao khi xử lí HCl.

Mẫu đất dùng để phân tích thành phần cơ giới, sau khi đã rửa sạch Ca^{2+} và Cl, dùng đũa thủy tinh chọc thủng giấy lọc, dùng nước cất cọ rửa trực tiếp vào bình có dung tích khoảng $750cm^3$. Thêm nước cất vào bình đến thể tích khoảng $250cm^3$ và thêm NaOH 1N theo dung tích hấp phụ của đất. Cứ 1 ml NaOH 1N tương ứng với 10 mgdl của dung tích hấp phụ. Việc thêm NaOH 1N mục đích để phá vỡ hoàn toàn các vi đoàn lạp và chuyển sang các nguyên tố cơ học.

Vì các mẫu đất dùng để phân tích thành phần cơ giới nhiều khi chưa xác định dung tích hấp phụ trước, cho nên để thuận tiện người ta quy định lượng NaOH 1N (ml) thêm vào theo các loại đất ở bảng sau :

LƯỢNG NaOH 1N DÙNG CHO CÁC LOẠI ĐẤT KHÁC NHAU

Loại đất	Lượng NaOH 1N(ml)
1) Đất feralit : Tầng 0–50cm	1–2
Các tầng dưới	1–1,5
2) Đất feralit trên sản phẩm đá vôi : Tầng 0–50cm	1,5–3,0
Các tầng dưới	2–3,0
3) Đất macgalit : Tầng 0–50cm	2–5
Các tầng dưới	2–3
4) Đất phù sa	0,5–1,5
Đất phù sa có tầng rửa trôi, bạc màu	0,5 – 1,5
Các loại phù sa khác	1–3

Sau đó đem đun sôi thể huyền phù 1 giờ, thời gian tính từ lúc bắt đầu sôi. Làm nguội dung dịch và chuyển toàn bộ vào ống đong có dung tích 1 lít qua rây cỡ 0,25mm. Dùng nước cất rửa phần chứa trên rây và sau đó thêm nước cất đến mức 1 lít. Như vậy, phần còn lại trên rây gồm những cấp hạt có kích thước từ 0,25–1,0mm, phần chứa trong ống đong là những cấp hạt có kích thước < 0,25mm. Phần chứa trên rây cho vào chén sứ đã biết khối lượng, sấy ở 105°C đến khối lượng không đổi. Nếu cần tách cấp hạt cát thô 1–0,5mm thì dùng thêm rây 0,5mm và sẽ thu được 2 cấp hạt là cát thô : 1–0,5mm và cát trung bình 0,5–0,25mm.

Tiến hành phân tích các cấp hạt phần trong ống đong dựa vào vận tốc lắng của phương trình Stockes. Tương quan giữa kích thước cấp hạt và độ sâu ống hút (pipet) trong dung dịch như sau :

- Đối với cấp hạt < 0,050mm thì độ sâu ống hút là 25cm
- Đối với cấp hạt < 0,010mm thì độ sâu ống hút là 10cm
- Đối với cấp hạt < 0,005mm thì độ sâu ống hút là 10cm
- Đối với cấp hạt < 0,001mm thì độ sâu ống hút là 7cm

Thời hạn lấy mẫu từ những độ sâu khác nhau được tính từ khi ngừng khuấy đục dung dịch, thời hạn này thay đổi tùy thuộc vào nhiệt độ và tỉ trọng thể rắn của đất. Trong khi phân tích cần giữ nhiệt độ ở điều kiện cố định. Ví dụ, những ống đong chứa mẫu có thể đặt trong một bể nước làm bằng mica trong suốt, nước trong bể được điều hòa nhiệt độ nhờ 2 vòi nước nóng và lạnh, hoặc ống đong được đậy nắp để giữ nhiệt, hạn chế không cho nhiệt độ dao động gây ảnh hưởng đến vận tốc chìm lắng.

Để theo dõi nhiệt độ, đặt nhiệt kế vào ống đong chứa nước và giữ nhiệt độ như điều kiện của những ống dung dịch đất. Bởi vì khoảng thời gian giữa những lần lắc – hút đối với những cấp hạt < 0,05 ; < 0,01 và < 0,005mm không lâu lắm nên nhiệt độ có thể chỉ đo một lần. Khi cần lấy cấp hạt < 0,001mm, nên đo nhiệt độ 3 lần : sau khi lắc dung dịch, trước khi hút và 1 lần vào giữa 2 thời điểm trên. Lấy nhiệt độ trung bình sau 3 lần đo, đối chiếu với tốc độ lắng tương ứng chọn để phân tích.

Về tỉ trọng thể rắn, nên lấy giá trị chính xác của từng loại đất nghiên cứu. Tuy nhiên, trong phân tích có thể dùng những trị số tương đối gần đúng cho một số trường hợp.

TỈ TRỌNG THỂ RẮN CỦA MỘT SỐ NHÓM ĐẤT CHÍNH Ở VIỆT NAM

Độ sâu (cm)	Nhóm đất feralit (đất đỏ vàng)	Nhóm đất phù sa trồng lúa
0 – 20	2,55 – 2,65	2,65 (chung cho cả các tầng dưới)
20 – 50	2,60 – 2,65	
50 – 100	2,65	
100 – 150	2,70	
150 – 200	2,70	

Ở bảng chỉ dẫn thời hạn lấy mẫu dung dịch huyền phù trong ống đong ở các độ sâu khác nhau tương ứng với vận tốc lắng của các cấp hạt theo phương trình Stockes trong điều kiện nhiệt độ và tỉ trọng thể rắn của đất khác nhau.

Vận tốc chìm lắng của các cấp hạt (V) tính theo phương trình Stockes :

$$V(cm/s) = \frac{2}{9} \cdot g. r^2 \frac{d_1 - d}{\eta}$$

r : bán kính của cấp hạt (mm)

d_1 : tỉ trọng thể rắn của đất

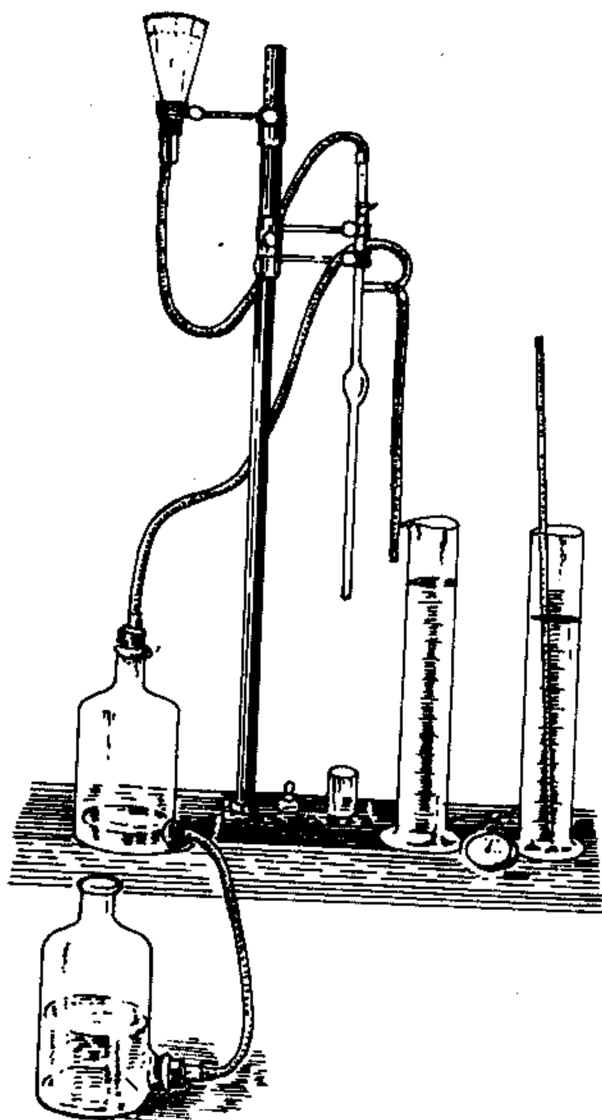
d : tỉ trọng chất lỏng dùng khi phân tích.

g : gia tốc trọng trường khi vật rơi tự do bằng 981cm/s

η : độ nhớt của chất lỏng (poazơ)

Dụng cụ để phân tích thành phần cơ giới đất bằng pipet theo Katrinski được trình bày ở hình 22.

Kĩ thuật lấy mẫu dung dịch huyền phù bằng dụng cụ này như sau : khuấy dung dịch huyền phù trong ống đong bằng que khuấy. Que khuấy gồm 1 tấm cao su hình tròn gắn với đũa thủy tinh hoặc que kim loại không gỉ. Tấm cao su hình tròn được đục thành nhiều lỗ đường kính mỗi lỗ khoảng 3mm. Que khuấy cho chuyển động từ trên xuống dưới và ngược lại 10 lần trong 20 giây. Theo thời hạn đã tính sẵn (xem phụ lục 8) nhúng ống hút xuống đến độ sâu quy định hút lấy thành phần cấp hạt cần tìm, dung dịch được hút vào pipet một cách từ từ. Lấy 25ml dung dịch huyền phù khi xác định cấp hạt < 0,005mm trong thời hạn 30 giây, đối với cấp hạt < 0,01mm trong thời hạn 25 giây và cấp hạt < 0,05mm trong thời hạn 20 giây. Mẫu lấy xong cho bốc hơi trên bếp cách cát hoặc trên nồi cách thủy, sau đó sấy ở nhiệt độ 105°C đến khối lượng không đổi. Khối lượng cốc đã được cân sẵn. Sau khi cân xong tính kết quả. Hàm lượng các cấp hạt được tính ra phần trăm theo công thức :



Hình 22 – Dụng cụ pipet để lấy mẫu khi xác định thành phần cơ giới

$$X = \frac{a \cdot 1000 \cdot 100}{b \cdot m}$$

X : thành phần cần tìm tính ra %, thành phần này nhỏ hơn kích thước cấp hạt nào đó, ví dụ < 0,05mm ; < 0,01mm...

a : khối lượng của thành phần nhỏ hơn kích thước cấp hạt cần tìm (g).

b : thể tích hút dung dịch huyền phù (ml).

m : khối lượng đất khô tuyệt đối lấy khi phân tích (g).

Trong thực tế phân tích không nên tính theo đất "khô tuyệt đối", mà nên tính theo đất "khô không khí", làm như vậy sẽ có nhiều thuận lợi trong việc tính kết

quả. Muốn vậy, nhân công thức trên với hệ số khô kiệt (k). Hệ số k được xác định theo công thức

$$k = \frac{100 + W_{hy}}{100}$$

Trong công thức này W_{hy} là độ hút ẩm không khí (độ ẩm hydroscopic).

Khối lượng thành phần có kích thước xác định (0,05 – 0,01mm ; 0,01 – 0,005mm ; 0,005 – 0,001mm và < 0,001mm) được tính bằng cách trừ khối lượng hoặc hàm lượng phần trăm của thành phần tiếp theo.

Ví dụ cụ thể về cách tính :

1) Khối lượng đất khô không khí lấy khi phân tích : 10g

2) Khối lượng thành phần có kích thước 1 – 0,25mm là 0,81g

3) Lượng tiêu hao khi xử lí bằng HCl : 0,232g

4) Khối lượng thành phần trong 25cm^3 dung dịch

Kích thước cấp hạt (mm)	Khối lượng thành phần cấp hạt (g)
< 0,05	0,116
< 0,01	0,075
< 0,005	0,015
< 0,001	0,009

5) Thành phần cấp hạt tính ra % so với khối lượng đất khô :

Kích thước cấp hạt (mm)	Thành phần (%)
1 – 0,25	$= \frac{0,81 \times 100 \times k}{10} = 8,18$
< 0,05	$= \frac{0,116 \times 100 \times 1000 \times k}{10 \times 25} = 46,8$
< 0,01	$= \frac{0,075 \times 100 \times 1000 \times k}{10 \times 25} = 30,3$
< 0,005	$= \frac{0,015 \times 100 \times 1000 \times k}{10 \times 25} = 6,06$
< 0,001	$= \frac{0,009 \times 100 \times 1000 \times k}{10 \times 25} = 3,64$

Khi thêm vào dung dịch huyền phù 2ml NaOH 1N, tương ứng 0,08g, nếu tính với lượng đất dùng phân tích 10g thì chiếm tỉ lệ 0,8%. Như vậy thực tế hàm lượng cấp hạt nhỏ hơn 0,001mm chỉ bằng 3,64 – 0,8 = 2,84%.

6) Khối lượng thành phần (%) so với khối lượng đất

Kích thước cấp hạt (mm)		Thành phần (%)
1 – 0,25	=	8,18
0,05 – 0,01	=	46,8 – 30,3 = 16,5
0,01 – 0,005	=	30,3 – 6,06 = 24,24
0,005 – 0,001	=	6,06 – 3,64 = 2,42
< 0,001	=	3,64 – 0,8 = 2,84

7) Lượng tiêu hao khi xử lí bằng HCl :

$$\frac{0,232 \times 100 \times 1,01}{10} = 2,34$$

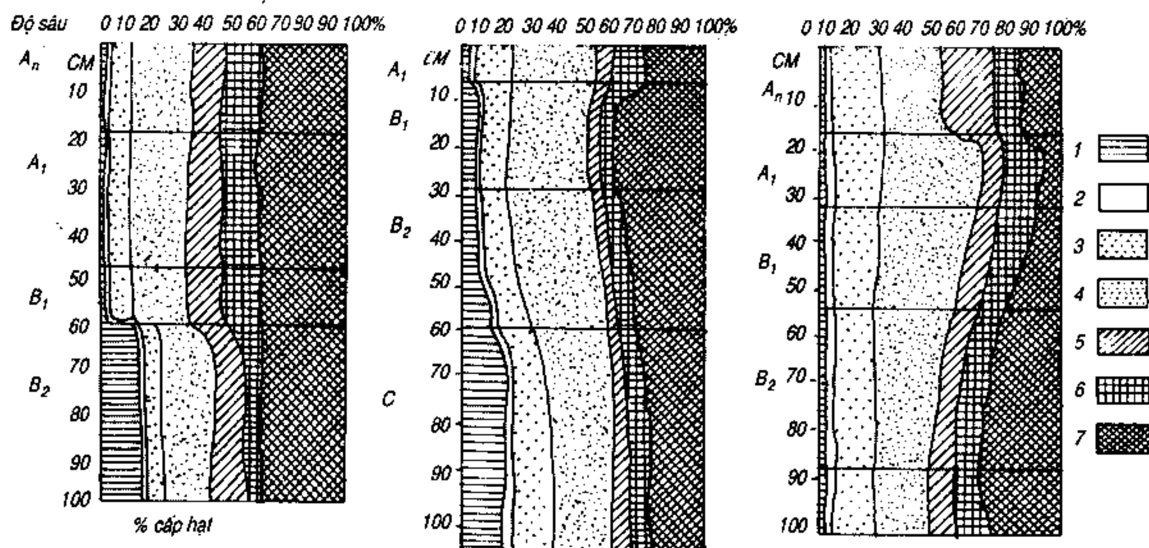
8) Thành phần cấp hạt có kích thước 0,25 - 0,05mm so với khối lượng đất khô là :

$$100 - (8,18 + 16,5 + 24,24 + 2,42 + 2,84 + 2,34) = 43,48\%$$

Đối với những đất có thành phần cơ giới nhẹ, dùng rây khi phân tích có thể phân chia thêm những thành phần chi tiết hơn. *Ví dụ,* có thể dùng rây cỡ 0,1mm. Như vậy, cùng với cỡ rây có kích thước 0,5 và 0,25mm có thể chia được 1-0,5 ; 0,5 - 0,25 và 0,25 - 0,1mm. Hàm lượng của chúng trong đất được tính bằng %. Tổng lượng của chúng cùng với những thành phần thu được khi hút bằng ống hút cộng gộp lại, lấy 100% trừ cho toàn bộ các thành phần trên sẽ thu được thành phần cấp hạt 0,1 - 0,05mm, như vậy có thể thu được một đặc trưng chi tiết hơn đối với các thành phần cát của đất nhẹ. Đối với những đất chứa cacbonat lượng "tiêu hao" khi xử lí bằng HCl nên phân chia thành cột riêng gọi là "thành phần tổng hợp" cũng gộp vào trong 100% của thành phần cơ giới đất.

d) Các phương pháp thể hiện kết quả phân tích thành phần cơ giới đất. Kết quả phân tích thành phần cơ giới thường ghi thành bảng, trong bảng số liệu này bên cạnh những thành phần cấp hạt còn ghi thêm cột "độ ẩm không khí" và "lượng tiêu hao" khi xử lí bằng HCl. Trị số về "lượng tiêu hao" đặc trưng cho sự có mặt trong đất những cacbonat và những muối dễ hòa tan trong đất.

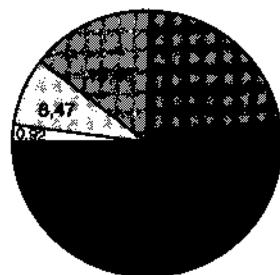
Để dễ hình dung những kết quả phân tích thu được, người ta thường thể hiện dưới dạng đồ thị. Ví dụ, phương pháp phẫu diện, phương pháp hình tròn (hình 23, 24).



Hình 23 – Phương pháp đồ thị biểu diễn thành phần cơ giới đất theo độ sâu phẫu diện đất
1 – Lượng tiêu hao khi xử lí HCl 0,05N ; 2 – Cát thô ; 3 – Cát mịn ; 4 – Limôn thô ; 5 – Limôn trung bình ; 6 – Limôn mịn ; 7 – Sét.

Việc thể hiện trên đồ thị theo phương pháp phẫu diện hiện nay được sử dụng rộng rãi trong thổ nhưỡng bởi vì nó có thể biểu thị được những dẫn liệu phân tích theo độ sâu các tầng phát sinh khác nhau.

Trục tung ghi độ sâu, trục hoành ghi hàm lượng % thành phần cấp hạt. Khi vẽ nhớ tính trị số sau cộng tiếp theo trị số trước ở trục hoành.



Hình 24 – Phương pháp hình tròn biểu diễn thành phần cơ giới đất (Diện tích hình tròn = 100%)

e) Ứng dụng thực tiễn của phân tích thành phần cơ giới. Có nhiều bảng phân loại thành phần cơ giới đất, nhưng bảng phân loại của Katrinski hiện nay được dùng rộng rãi trong thổ nhưỡng học. Theo bảng phân loại này thì việc xác định tên gọi và phân chia các nhóm đất đều dựa vào kết quả phân tích cơ giới. Đất gọi theo thành phần cơ giới căn cứ vào hàm lượng cát vật lí và sét vật lí và theo ưu thế trội của các thành phần : sỏi, sạn 1 – 3mm, cát 1 – 0,05mm, limôn thô 0,01 – 0,05mm, limôn 0,01 – 0,001mm và sét < 0,001mm).

PHÂN LOẠI ĐẤT THEO THÀNH PHẦN CƠ GIỚI CỦA KATRINSKI

Hàm lượng sét vật lí (cấp hạt < 0,01mm)			Hàm lượng cát vật lí (cấp hạt > 0,01mm)			Đất được gọi theo thành phần cơ giới
Đất						
Kiểu pôtzôn	Kiểu đồng cỏ ; đất đỏ, đất vàng	Đất mặn	Kiểu pôtzôn	Kiểu đồng cỏ ; đất đỏ, đất vàng	Đất mặn	
0 – 5	0 – 5	0 – 5	100 – 95	100 – 95	100 – 95	Cát xốp
5 – 10	5 – 10	5 – 10	95 – 90	95 – 90	95 – 90	Cát dính
10 – 20	10 – 20	10 – 15	90 – 80	90 – 80	90 – 85	Cát pha
20 – 30	20 – 30	15 – 20	80 – 70	80 – 70	85 – 80	Thịt nhẹ
30 – 40	30 – 45	20 – 30	70 – 60	70 – 55	80 – 70	Thịt trung bình
40 – 50	45 – 60	30 – 40	60 – 50	55 – 40	70 – 60	Thịt nặng
50 – 65	60 – 75	40 – 50	50 – 35	40 – 25	60 – 50	Sét nhẹ
65 – 80	75 – 85	50 – 65	35 – 20	25 – 15	50 – 35	Sét trung bình
> 80	> 85	> 65	< 20	< 15	< 35	Sét nặng

g) Xác định thành phần cơ giới (Theo FAO – UNESCO)

– Nguyên lí

Tách phần khoáng của đất thành những cấp hạt có kích thước khác nhau và xác định tỉ lệ của chúng. Quá trình phân tích áp dụng cho toàn bộ vật liệu đất, nghĩa là gồm vật liệu thô và đá. Nhưng phương pháp này chỉ áp dụng đối với những đất mịn (< 2mm).

Phần quan trọng trong phân tích là xử lí sơ bộ mẫu để làm phân tán toàn bộ các cấp hạt nguyên sinh. Do đó, các vật liệu có tính dính kết (thường có nguồn gốc thứ sinh), ví dụ : chất hữu cơ, $CaCO_3$ cần phải loại, trong một số trường hợp, setquioxit cũng cần phải loại trừ. Tuy nhiên cần nhấn mạnh, đối với mục đích sản xuất nông nghiệp thì việc loại trừ này về cơ bản không cần. Vì vậy, tùy theo mục đích nghiên cứu, việc xử lí sơ bộ không bắt buộc. Với mục đích đánh giá các đặc trưng hóa học đất, cần tiến hành tách chất hữu cơ bởi H_2O_2 và $CaCO_3$ bởi một dung dịch đệm có tính axit yếu pH = 5.

– *Dụng cụ*

Bếp cách thủy

Bếp điện

Máy lắc

Máy rây

Đồng hồ bấm

Cốc xác định độ ẩm

Hệ thống rây có đáy (đường kính khoảng 20cm)

Phễu nang bằng đồng (đường kính khoảng 23cm)

Rây nhỏ cỡ 50μm (đường kính khoảng 8cm)

Ống đong thủy tinh dung tích 1 lít

Tủ sấy

– *Hóa chất*

H_2O_2 30%.

Dung dịch đệm axetat nồng độ 1M : hòa tan 680g $CH_3COONa.3H_2O$ trong khoảng 4 lít nước, chỉnh tới pH = 5,0 bằng 250ml CH_3COOH, thêm nước cất đến 5 lít.

Thuốc thử làm phân tán : Dung dịch pirophophat 5% : hòa tan 50g $Na_4P_2O_7.10H_2O$ trong chai có dung tích 1 lít, sau đó thêm nước đến vạch 1 lít.

Có thể thay thế bằng dung dịch natri hecxametaphophat 3% : hòa tan 30g $(NaPO_3)_6$ trong nước chứa trong chai có dung tích 1 lít, sau đó thêm nước cất đến vạch mức.

Dung dịch NaCl bão hòa : hòa tan 350g NaCl trong một lít nước nóng, làm nguội.

– *Trình tự phân tích*

Đối với đất có chứa cacbonat ($pH_{H_2O} > 6,8$ thì tiến hành loại cacbonat bằng xử lí bởi dung dịch đệm axit yếu. Nếu đất không chứa cacbonat ($pH_{H_2O} \leq 6,8$) thì tiến hành ôxi hóa chất hữu cơ.

1) Loại cacbonat. Cân khoảng 20g đất mịn, cho vào cốc dung tích 1 lít (nếu hàm lượng cacbonat nhiều hơn 10% thì có thể cân nhiều hơn 20g đất). Thêm khoảng 100ml dung dịch đệm và đun nóng trên bếp cách thủy (100°C). Đậy cốc bằng miếng kính. Sau khi ngừng sủi bọt, thêm khoảng 25ml dung dịch đệm đến khi sự sủi bọt không tái diễn sau khi thêm tiếp dung dịch đệm mới. Trong trường hợp hàm lượng cacbonat rất nhiều, có thể thêm 5ml axit axetic băng thay cho dung dịch đệm. Trong trường hợp này có thể dùng giấy quỳ để thử pH.

Li tâm và gạn hoặc để qua đêm rồi dùng xiphông hút dung dịch bên trên.

Trường hợp bị tụ keo (peptit hóa), thêm một vài mililit dung dịch NaCl bão hòa. *Chú ý :* Phương pháp rửa này nhằm loại canxi axetat từ dung dịch lơ lửng vì nó có thể chuyển sang canxi oxalat không tan.

2) *Ôxi hóa chất hữu cơ*

Cân khoảng 20g đất mịn, cho vào cốc dung tích 1 lít.

Thêm 15ml nước và 15ml H_2O_2 30% (trong trường hợp xử lí sơ bộ thì không cần thêm H_2O hoặc thêm ít), đậy cốc bằng miếng kính. Trường hợp sủi bọt mạnh, đặt cốc vào trong bể nước lạnh. Cũng có thể ngăn sự sủi bọt bằng cách thêm vài giọt cồn. Để qua đêm, hôm sau đặt cốc lên bếp cách thủy (khoảng 80°C) và thêm đều đặn 5 - 10ml H_2O_2 30% cho đến khi phân hủy chất hữu cơ xảy ra hoàn toàn (thông thường dung dịch bên trên trở nên trong).

Thêm H_2O đến thể tích khoảng 300ml.

Đặt lên bếp nóng và đun sôi cẩn thận 1 giờ để loại toàn bộ H_2O_2 còn dư lại.

Lấy cốc ra và để nguội.

Li tâm hoặc gạn để các vật liệu lắng trong bình và dùng xi phông hút.

Thêm khoảng 300ml H_2O và làm phân tán lại kết tủa. Nhắc lại 8-9 lần cho đến khi xuất hiện peptit hóa. Muốn vậy phải rửa nhiều lần (hơn 4 lần), sau đó thêm một vài mililit dung dịch NaCl bão hòa để xúc tiến peptit hóa.

Chú ý : Đối với những đất có chứa thạch cao cần rửa nhiều để hòa tan chúng.

3) *Tách hợp chất sắt*

Thao tác này thường thực hiện sau những xử lí sơ bộ khác, trước khi làm phân tán đất.

Thuốc thử :

Dung dịch đệm natri xitrat 0,3M và natri đicacbonat 0,1M : hòa tan 88g Na-xitrat.$2H_2O$ và 8,4g $NaHCO_3$ trong nước và dẫn bằng nước tới vạch 1 lít.

Natri dithionit.

Trình tự phân tích

Thêm khoảng 200ml dung dịch đệm vào 20g đất mịn chứa trong cốc dung tích 1 lít.

Đun nóng trên bếp cách thủy tới khoảng 75°C (không được quá 80°C vì S nguyên tố sẽ kết tủa).

Dùng thìa thêm khoảng 1 gam natri dithionit và khuấy liên tục khoảng 1 phút sau đó khuấy ngắt quãng trong 5 phút. Nhắc lại 3 - 4 lần.

Li tâm và gạn lọc hoặc để cho lắng rồi dùng xi phông hút.

Đối với những mẫu chứa hơn 5% Fe_2O_3 có dạng dễ chiết rút, cần nhắc lại trình tự thêm 1-2 lần : màu nâu hoặc đỏ của mẫu chứng tỏ chưa loại Fe hoàn toàn.

Rửa thêm 1 lần nữa với khoảng 250ml hoặc 500ml NaCl 1M.

Tiếp tục làm như khâu cuối cùng của phần ôxi hóa chất hữu cơ.

4) Làm phân tán đất

Chuyển hết dịch lơ lửng vào chai nhựa dung tích 1 lít (nếu không sơ bộ xử lí, cân khoảng 20g vào chai).

Thêm 25ml thuốc thử phân tán, dùng nước đưa thể tích đến khoảng 400ml, rồi nút chai, lắc để qua đêm (16h).

5) Tách riêng các cấp hạt

Rây dung dịch lơ lửng qua rây cỡ 50μm qua phễu đặt trên ống đong.

Dùng nước đưa thể tích trong ống tới 1 lít.

Rửa cấp hạt cát trên rây và chuyển vào cốc, cho bay hơi trên bếp cách thủy, sấy ở 105°C khoảng 1 giờ.

6) Xác định cấp hạt cát

Chuyển cát vừa sấy khô ở trên vào rây ở trên cùng của một chồng rây theo thứ tự 1000μm, 500μm, 250μm, 100μm, 50μm và đáy.

Rây khoảng 10 phút trên máy rây, được thiết đặt biên độ : độ rộng 7,0 và khoảng cách 4 (ở vị trí lắp đặt này các rây sẽ rung với tần số 3000 dao động / phút và biên độ khoảng 2mm).

Rửa sạch các cấp hạt ở từng rây vào các cốc đã cân trước, sấy, cân. Khối lượng A qua E là cấp hạt cát.

Nếu có vật liệu tụ lại ở rây đáy (< 50μm) thì chuyển nó sang dạng lơ lửng trong ống đong để lắng đọng như cách làm ở phần tách riêng các cấp hạt.

7) Xác định limôn (silt) và sét (clay)

Cấp hạt < 50μm :

Vật liệu < 50μm có thể đọng lại trong quá trình rây (xem : xác định cấp hạt cát), do vậy cần đậy ống đong bằng nút cao su và lắc đều.

Đặt ống đong trên bàn, mở nút và dùng pipet hút 20ml ở giữa tâm ống đong.

Chuyển dung dịch vào cốc đã cân trước, cho bay hơi trên bếp cách thủy và sấy qua đêm ở 105°C.

Lấy cốc ra và làm nguội trong bình hút ẩm rồi cân (khối lượng khô F cho cấp hạt < 50μm).

Cấp hạt < 20μm :

Đậy nắp ống đong và lắc đều.

Đặt ống đong lên bàn dưới ống hút pipet.

Sau đúng 5 phút, dùng pipet hút 20ml ở độ sâu như bảng 1.

Chuyển dịch lơ lửng vừa lấy vào cốc đã cân trước, cho bay hơi trên bếp cách thủy, sấy khô ở 105°C, cân.

Khối lượng mẫu G là cấp hạt < 20μm.

Cấp hạt < 2μm :

Sau 5h30' dùng pipet hút 20ml ở độ sâu của bảng 1.

Chuyển dung dịch mới lấy vào cốc đã cân trước, cho bay hơi trên bếp cách thủy, sấy khô ở 105°C và cân.

Khối lượng H là cấp hạt < 2μm.

Chú ý : Sau mỗi lần lấy mẫu bằng pipet, đo nhiệt độ của dung dịch lơ lửng.

Bảng 1. **Độ sâu (cm) lấy mẫu cấp hạt < 20μm và < 2μm phụ thuộc vào nhiệt độ (°C).**

Nhiệt độ °C	5 phút < 20μm (< 0,02 mm)	5h30' < 2μm (< 0,002mm)	Nhiệt độ °C	5 phút < 20μm (< 0,02 mm)	5h30' < 2μm (< 0,002mm)
19	10,5	6,9	28	13	8,6
20	10,8	7,1	29	13,3	8,8
21	11,0	7,2	30	13,6	9,0
22	11,3	7,4	31	13,9	9,1
23	11,6	7,6	32	14,2	9,3
24	11,9	7,8	33	14,4	9,5
25	12,1	8,0	34	14,8	9,7
26	12,4	8,2	35	15,1	9,9
27	12,7	8,4	36	15,4	10,1

Kết quả tính theo khối lượng sau khi sấy khô. Đó là tổng của tất cả các cấp hạt riêng biệt.

Cách tính :

Sét (clay) (< 2μm) = (H × 50) − 0,75g* (khối lượng K)

Limôn (silt) (2–20μm) = (G × 50) − 0,75 − K (khối lượng L)

Limôn (20 − 50μm) = (F × 50) − 0,75 − K − L (khối lượng M)

Cát (> 50μm) = A + B + C + D + E (khối lượng N)

Khối lượng mẫu = K + L + M + N (tính theo gam)

Khối lượng các cấp hạt theo % tính như sau :

$$\% \text{ sét } (< 2\mu m, = \frac{K}{\text{khối lượng mẫu}} \times 100$$

$$\% \text{ limôn } (2 - 20\mu m) = \frac{L}{\text{khối lượng mẫu}} \times 100$$

$$\% \text{ limôn } (20 - 50\mu m) = \frac{M}{\text{khối lượng mẫu}} \times 100$$

$$\% \text{ cát } (2000 - 1000\mu m) = \frac{A}{\text{khối lượng mẫu}} \times 100$$

(*) − Hiệu chỉnh cho tác nhân phân tán : hecxametaphotphat hoặc dehidratpirophotphat.

$$\% \text{ cát } (1000 - 500\mu m) = \frac{B}{\text{khối lượng mẫu}} \times 100$$

$$\% \text{ cát } (250 - 500\mu m) = \frac{C}{\text{khối lượng mẫu}} \times 100$$

$$\% \text{ cát } (100 - 250\mu m) = \frac{D}{\text{khối lượng mẫu}} \times 100$$

$$\% \text{ cát } (50 - 100\mu m) = \frac{E}{\text{khối lượng mẫu}} \times 100$$

Chú ý : Với cách tính như trên thì các cấp hạt sét, limôn và cát tính ra % là của đất mịn (trừ cacbonat và chất hữu cơ đã bị loại trước).

Cấp hạt thô > 2mm nếu có, tính ra % của tổng số đất. Nếu tất cả các cấp hạt cần tính ra tổng số đất thì :

%sét , limôn , cát của tổng số đất =

$$= \frac{100 - \%(\text{cấp hạt} > 2mm + \text{cacbonat} + \text{chất hữu cơ})}{100} \times \% \text{ sét, limôn, cát của đất mịn}$$

Trường hợp tách Fe thì % "sắt tự do" sẽ tính cả vào phần ngoặc đơn của công thức.

8) Xác định sét mịn (< 0,2μm)

Nguyên lí : Vì tốc độ lắng chậm của hạt sét nên không thuận tiện cho lắng trong ống đong. Do đó phải dùng máy li tâm để tăng tốc độ lắng.

Trình tự phân tích :

Sau khi dùng pipet lấy mẫu cấp hạt < 2μm, đậy nút ống đong và lắc đều.

Để yên tĩnh khoảng 1 giờ và lấy khoảng 200ml dung dịch lơ lửng cho vào chai li tâm có dung tích 250ml. Khoảng cách giữa bề mặt dung dịch lơ lửng và tâm máy li tâm trong khi quay là khoảng 16cm.

Cho máy quay với vận tốc 1800 vòng/phút theo thời gian chỉ dẫn ở bảng 2 (trừ thời gian bắt đầu và kết thúc).

Chú ý : Nếu quay 2500 vòng/phút thì thời gian sẽ ít hơn. Trong trường hợp này sử dụng chai nhựa.

Tắt máy li tâm.

Lấy các chai ra khỏi máy và đặt dưới pipet.

Dùng pipet hút 20ml ở độ sâu khoảng 4,5cm. Đo nhiệt độ của dịch lơ lửng.

Chuyển thể tích đã lấy vào cốc đã cân trước, cho bay hơi trên bếp cách thủy, sấy ở nhiệt độ 105°C qua đêm.

Làm nguội cốc trong bình hút ẩm và cân khối lượng cấp hạt P (g).

Tính kết quả : $\% \text{ sét mịn } (<0,2\mu m) = \frac{(P \times 50) - 0,75}{\text{khối lượng mẫu}} \times 100$

Bảng 2. **Tốc độ li tâm, thời gian quay và nhiệt độ để xác định cấp hạt sét mịn < 0,2μm.**

Nhiệt độ °C	1800 vòng/phút	2500 vòng/phút
20	32,0	16,5
21	31,0	16,1
22	30,0	15,7
23	29,5	15,3
24	29,0	15,0
25	28,0	14,6
26	27,5	14,2
27	27,0	14,0
28	26,5	13,5
29	26,0	13,3
30	25,0	13,0
31	24,5	12,8
32	24,0	12,5
33	23,5	12,3
34	23,0	12,0
35	22,5	11,8
36	22,0	11,5
37	22,0	11,3
38	21,5	11,1
39	21,0	10,9
40	20,5	10,6

9) Sét phân tán trong nước

Nguyên lí : Đó là hàm lượng sét xác định được khi không xử lí sơ bộ mẫu và khi không thêm tác nhân phân tán trước khi lắc với nước.

Trình tự phân tích :

Cân khoảng 10 gam đất mịn cho vào chai dung tích 1 lít

Thêm khoảng 400ml nước và lắc qua đêm

Chuyển sang ống đong lắng, dung tích 1 lít và thêm nước đến vạch mức

Sau 5h30' dùng pipet hút 20ml ở độ sâu theo bảng 1

Chuyển dung dịch lơ lửng vừa lấy vào cốc đã cân trước, cho bay hơi trên bếp cách thủy, sấy ở 105°C qua đêm.

Làm nguội cốc trong bình hút ẩm rồi cân (khối lượng cấp hạt Q(g))

Cách tính :

$$\text{sét}\,(\%) = \frac{50 \times Q}{s} \times 100 \times \text{mcf}$$

s : khối lượng mẫu khô không khí tính ra gam

mcf : hệ số độ ẩm.

10) Một số phương pháp khác trong phân tích thành phần cơ giới đất

Nhìn chung nhiều nhà khoa học trên thế giới đã thừa nhận phương pháp pipet là phương pháp chính xác nhất, thuận tiện nhất. Tuy nhiên, ở một số nước lại sử dụng những phương pháp riêng.

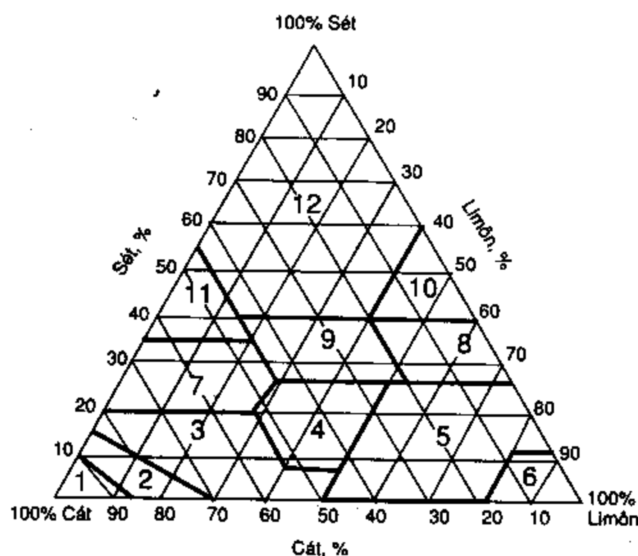
Ví dụ, ở Mĩ kích thước cấp hạt sét được quy định là < 0,002mm ; dùng H_2O để phá hủy chất hữu cơ và HCl để phá hủy cacbonat. Cấp hạt limôn được quy định có kích thước từ 0,05 – 0,002mm, trong khi đó, cũng cấp hạt limôn này được Hội Thổ nhưỡng quốc tế quy định là 0,02 – 0,002mm.

Các nước này đã sử dụng máy lắc như là biện pháp cơ học để phân tán các cấp hạt và khi phân loại người ta sử dụng tam giác đều với thang phân loại như sau :

1. Cát (Sand)
2. Cát pha thịt (Loamy – sand)
3. Thịt pha cát (Sandy – loam)
4. Thịt (Loam)
5. Thịt pha limôn (Silty – loam)
6. Limôn (Silt)
7. Thịt pha sét và pha cát (Saudy clay – loam)
8. Thịt pha sét và pha limôn (Silty clay – loam)
9. Thịt pha sét (Clay – loam)
10. Sét pha limôn (Silty – clay)
11. Sét pha cát (Sandy – clay)
12. Sét (Clay)

Cần nhấn mạnh rằng phân loại các cấp hạt có tác giả dùng tam giác đều (hình 25), có tác giả lại dùng tam giác vuông với trục tung biểu thị % của hàm lượng cấp hạt sét ; trục hoành (cạnh đáy) biểu thị % của hàm lượng cấp hạt cát còn cạnh huyền để trống.

Thành phần cơ giới theo những phương pháp của Mĩ được trình bày bằng hình tam giác đều (hình 25) bao gồm 12 loại ; 3 nhóm cấp hạt : sét ; limôn và cát được biểu thị ở 3 cạnh. Đỉnh tam giác tương ứng 100%. Từ đáy tam giác đến đỉnh chia thành 10 hàng, mỗi hàng tương ứng 10%. Hàm



Hình 25. Thành phần cơ giới đất phân loại theo hình tam giác đều

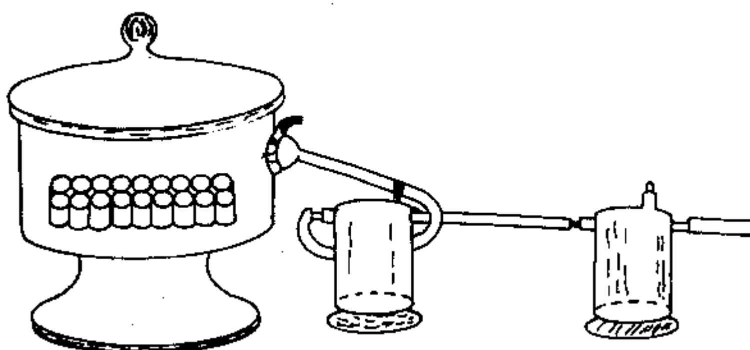
1. Cát (Sand)
2. Cát pha thịt (Loamy sand)
3. Thịt pha cát (Sandy loam)
4. Thịt (Loam)
5. Thịt pha limôn (Silty loam)
6. Limôn (Silt)
7. Thịt pha sét và pha cát (Saudy clay loam)
8. Thịt pha sét và pha limôn (Silty clay loam)
9. Thịt pha sét (Clay loam)
10. Sét pha limôn (Silty clay)
11. Sét pha cát (Sandy clay)
12. Sét (clay)

lượng của 3 nhóm cấp hạt : cát ; limôn, sét được biểu thị ở 3 đường thẳng song song với đáy tam giác. Theo điểm giao nhau của 3 đường thẳng trong tam giác sẽ biết được loại đất cần tìm.

2. Xác định độ hút ẩm không khí cực đại (max.hy)

Độ hút ẩm không khí cực đại là lượng nước được hấp phụ từ không khí bão hòa hơi nước, nghĩa là trên bề mặt hạt đất được hấp phụ kín một lớp đơn phân tử nước. Nước này kí hiệu là $W_{max.hy}$.

Trình tự phân tích : Đất đã nhặt sạch xác thực vật, giã và rây qua rây cỡ 1mm, trộn đều rồi cân 5 - 10g đối với đất chứa nhiều mùn và có thành phần cơ giới nặng ; 10 - 15g đối với đất ít mùn và có thành phần cơ giới nhẹ, cho vào cốc cân, mở nắp và đặt trong bình hút ẩm. Để tạo môi trường bão hòa hơi nước, trong bình hút ẩm, ở đáy người ta đổ dung dịch H_2SO_4 10% theo tỉ lệ đất được cân là : 1g đất - 2ml H_2SO_4 10%. Theo Mitrelic, trong khoảng chân không ở bình hút ẩm đóng kín trên dung dịch H_2SO_4 10% thường có độ ẩm tương đối từ 96 đến 98%. Trường hợp không có H_2SO_4, có thể dùng dung dịch bão hòa K_2SO_4 (50g K_2SO_4 hòa tan trong 1 lít nước cất) để thay thế. Dùng bơm hút chân không rút không khí ra khỏi bình hút ẩm đến áp suất 150 - 160mmHg.



Hình 26 - Bình Chisenko dùng để xác định độ hút ẩm không khí cực đại

Để bảo hiểm khi áp suất chân không mạnh, khi xác định nên đeo kính bảo hiểm, còn bình hút ẩm phải bọc kĩ. Qua thời gian 7 - 10 ngày đêm tiến hành cân lần thứ nhất, nhớ chú ý đậy nhanh nắp cốc cân. Trong trường hợp chân không, trước khi mở nắp bình hút ẩm cần cho không khí từ từ vào bình bằng cách cho qua hệ thống bình Chisenko (hình 26) chứa 10% H_2SO_4 với vận tốc điều hòa.

Đất được hút ẩm đến mức độ cực đại trong bình hút ẩm trên dung dịch H_2SO_4 hoặc K_2SO_4 phải tiến hành cho đến khi khối lượng không đổi hoặc cho đến khi khối lượng giữa lần cân trước và lần cân sau chênh lệch không quá 0,005g. Thời gian bão hòa cần khoảng 1 tháng. Sau đó đem sấy ở 105°C cho đến khối lượng không đổi giữa các lần cân. Số liệu thu được ghi theo biểu mẫu sau :

Biểu mẫu ghi kết quả xác định độ hút ẩm cực đại của đất.

Tầng và độ sâu lấy mẫu (cm)	Số cốc cân	Khối lượng cốc cân	Khối lượng cốc + đất	Sau khi bão hòa				Sau khi sấy khô			Khối lượng nước mất sau khi sấy	Khối lượng đất khô	Độ hút ẩm cực đại	Trung bình (%)
				Ngày										
								1	2	3				

Độ hút ẩm không khí cực đại được tính theo công thức :

$$W_{max.hy}.(\%) = \frac{100(b-c)}{c-a}$$

a : khối lượng cốc (g)

b : khối lượng cốc + đất sau khi bão hòa hơi nước

c : khối lượng cốc + đất sau khi sấy khô

Vì độ hút ẩm liên quan mật thiết tới tổng diện tích bề mặt của các hạt đất và sức căng bề mặt, do đó dựa theo độ hút ẩm cực đại bằng cách gián tiếp người ta có thể tính được độ ẩm cây héo (W_{ch}) và tỉ diện của đất (S m^2/g) theo các công thức :

$$W_{ch}(\%) = W_{max.hy} \times 1,5$$

Nếu $W_{max.hy}$ tính theo % và lượng nước tính theo gam thì khối lượng hoặc thể tích màng nước trong 1 gam đất là :

$$\frac{W_{max.hy}}{100} g \text{ hoặc } \frac{W_{max.hy}}{100} cm^3$$

Để tính tỉ diện của đất cần chia thể tích màng nước cho chiều cao của nó

$$\frac{W_{max.hy}}{100} : \frac{25.10}{100 . 1000000 . 10} = 40000\ W_{max.hy}\ cm^2 = 4W_{max.hy}\ m^2$$

25.10 : đường kính của phân tử nước (cm)

10 : ở độ hút ẩm cực đại, xung quanh hạt đất tạo ra lớp nước bằng 10 phân tử nước.

3. Xác định tỉ trọng thể rắn của đất

Tỉ trọng thể rắn của đất là tỉ số giữa khối lượng thể rắn đất (đất không có lỗ hổng) của một thể tích xác định và khối lượng của nước cùng thể tích ở 4°C.

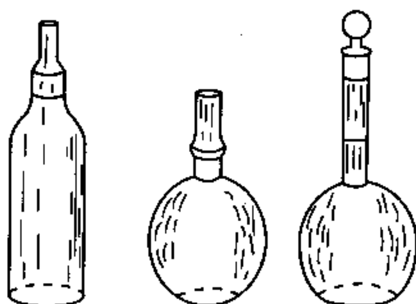
Tỉ trọng thể rắn của đất phụ thuộc vào thành phần khoáng và hóa học. Tỉ trọng của mùn 1,20 – 1,40. Đất nghèo mùn hoặc đất ở các tầng dưới chứa nhiều khoáng chất có tỉ trọng thay đổi từ 2,60 đến 2,80, đôi khi tới 3,0. Tỉ trọng thể rắn đất được sử dụng khi phân tích thành phần cơ giới và tính độ xốp của đất.

Phương pháp picnômet xác định tỉ trọng thể rắn của đất. Nguyên tắc của phương pháp này là xác định thể tích nước hoặc thể tích của chất lỏng trơ tương ứng với

thể tích đất lấy để phân tích. Đối với đất mặn chứa trên 0,5% muối tan thì dùng chất lỏng không phân cực như : benzen, xăng, toluen, dầu hỏa... Đối với đất không mặn thì dùng nước cất không có không khí.

Trình tự phân tích :

+ *Xác định thể tích picnômet :* Picnômet được rửa sạch (hình 27), tráng bằng nước cất và sấy khô ở nhiệt độ không quá 60°C, sau đó đậy nút, đem cân trên cân phân tích. Ghi khối lượng của picnômet.



Hình 27 – Bình tỉ trọng (picnômet)

Dùng nước cất đã đun sôi đổ đầy picnômet, đậy nút, lau chùi sạch và ghi nhiệt độ nước trong picnômet ở thời điểm xác định, sau đó cân trên cân phân tích và tính thể tích picnômet theo công thức :

$$V = \frac{a_1 - a}{D}$$

V : thể tích picnômet (cm^3).

a_1 : khối lượng picnômet + nước cất (g).

a : khối lượng picnômet khô sau khi sấy (g).

D : tỉ trọng của nước ở nhiệt độ đã cho.

Sau khi xác định xong thể tích, đổ hết nước, sấy khô picnômet và chuẩn bị thực hiện tiếp giai đoạn sau.

+ *Xác định tỉ trọng thể rắn.* Mẫu đất được nhặt sạch xác thực vật, giã và rây qua rây cỡ 1mm. Sau đó cân 2 mẫu :

Cân 4 – 5 gam cho vào cốc để xác định độ hút ẩm không khí và hệ số k.

Cân 8 – 10 gam cho vào picnômet và cân khối lượng của picnômet + đất trên cân phân tích, đổ nước cất vào picnômet sao cho sau khi đất ngấm nước còn thừa lớp nước từ 3 – 5mm. Cẩn thận lắc trộn đất và nước nhưng chú ý không cho đất bám lên thành picnômet. Đậy nắp và để ngấm từ 10 – 12 giờ. Sau thời hạn trên mở nút đem đặt vào bình hút ẩm. Dùng bơm chân không hút không khí trong bình hút ẩm đến áp suất bằng 160mmHg. Picnômet đặt trong điều kiện chân không trong 1 giờ. Trong thời gian này không khí lẫn ở trong nước và trong đất gần như hoàn toàn được tống ra ngoài. Sau đó mở vòi bình hút ẩm (mở từ từ, không nên mở mạnh đột ngột), lấy picnômet ra ngoài và đổ thêm nước cất đến đầy bình (nước cất không có không khí). Đậy nắp picnômet, lau bằng khăn khô và cân trên cân phân tích.

Nếu không có máy bơm chân không để rút không khí khỏi bình hút ẩm, có thể dùng phương pháp đun (đun 1 giờ kể từ khi bắt đầu sôi). Nếu tiến hành theo phương pháp này thì sau 10 – 12 giờ làm ngấm đất trong bình picnômet, đổ thêm nước cất cho đến khoảng 1/2 thể tích và đặt lên bếp cát hoặc bếp điện có lưới amiăng. Chú ý không để sôi mạnh, làm nguội picnômet và đổ nước cất cho đầy rồi cân. Tỉ trọng thể rắn đất được tính theo công thức :

$$d = \frac{P_1 . 100}{(100 + W_{hy})V} = \frac{P}{V}$$

d : tỉ trọng thể rắn của đất.

P_1 : khối lượng đất khô không khí trong picnômet (g)

P : khối lượng đất khô tuyệt đối (g).

V : thể tích đất trong picnômet (cm^3).

W_{hy} : độ hút ẩm không khí.

Ngoài công thức trên, tỉ trọng thể rắn của đất có thể được tính theo công thức khác đơn giản hơn :

$$d = \frac{B}{(A + B - C)}$$

B : khối lượng đất khô không khí

(A + B − C) : tương ứng thể tích nước do khối lượng của đất choán chỗ.

A : khối lượng picnômet + nước

C : khối lượng picnômet + nước + đất.

Tất cả số liệu phân tích được ghi theo biểu mẫu sau :

BIỂU MẪU GHI KẾT QUẢ XÁC ĐỊNH TỈ TRỌNG THỂ RẮN CỦA ĐẤT

1	Số mẫu đất	
2	Tầng, độ sâu (cm)	
3	Số picnômet	
4	Khối lượng picnômet (a)	
5	Khối lượng picnômet + đất khô không khí (a + Pt)	
6	Khối lượng đất khô không khí trong picnômet (Pt)	
7	Nước hút ẩm không khí (W_{hy} %)	
8	Khối lượng đất khô tuyệt đối trong picnômet $\left(P = \frac{P_1 . 100}{100 + Why}\right)$	
9	Khối lượng picnômet + đất khô tuyệt đối ($P_2 = a + P$)	
10	Khối lượng picnômet + đất + nước (P_3)	
11	Khối lượng nước đổ thêm ở t°C ($P_3 - P_2$)	
12	Nhiệt độ nước (°C)	
13	Tỉ trọng nước ở nhiệt độ đã cho (D)	
14	Thể tích của nước đổ thêm $V_1 = \frac{P_3 - P_2}{D}$	
15	Thể tích picnômet (V_2)	
16	Thể tích đất trong picnômet ($V = V_2 - V_1$)	
17	Tỉ trọng thể rắn của đất $\left(d = \frac{P}{V}\right)$	

4. Xác định dung trọng của đất

Dung trọng (khối lượng của một đơn vị thể tích) của đất là tỉ số giữa khối lượng đất khô tuyệt đối ở trạng thái tự nhiên (kể cả những lỗ hổng) của một thể tích xác định với khối lượng của nước có cùng thể tích ở 4°C.

Dung trọng đặc trưng cho độ chặt của đất, trong thổ nhưỡng học, dung trọng sử dụng để :

- Tính trữ lượng nhiều nguyên tố và chuyển chúng từ % sang thể tích.

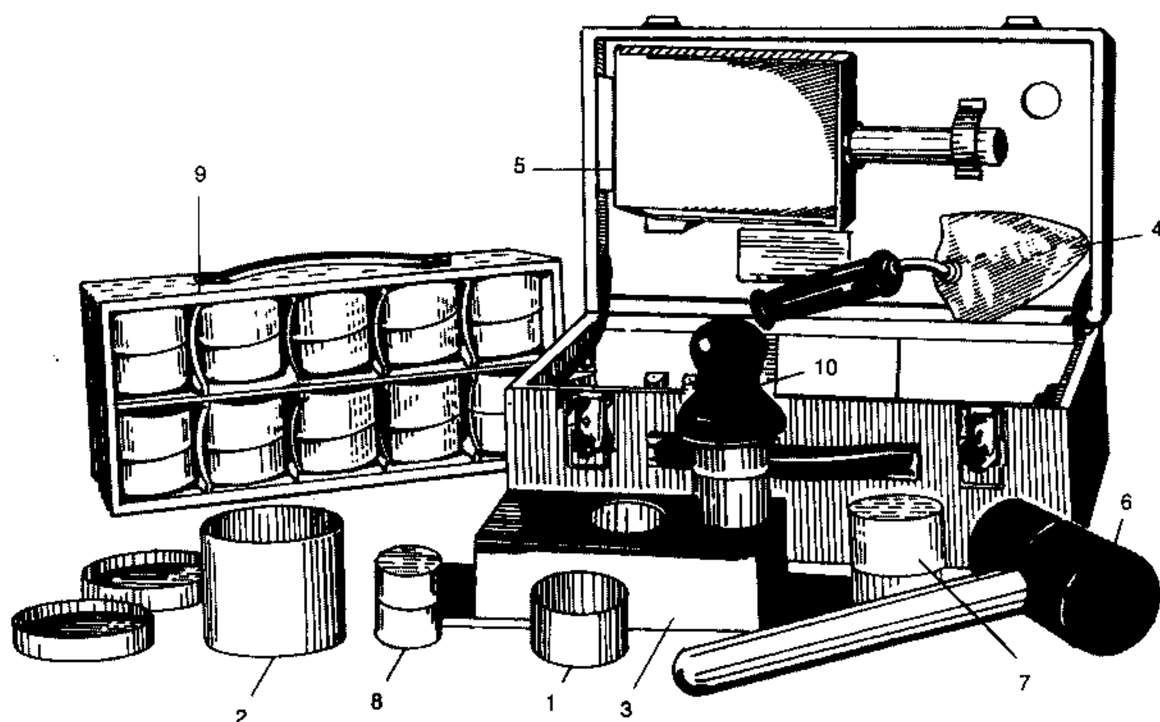
- Đánh giá một cách khách quan quá trình rửa trôi theo chiều sâu và việc chuyển dời các nguyên tố từ tầng này sang tầng đất khác.

- Tính độ hổng hay độ xốp của đất.

Có nhiều phương pháp xác định dung trọng nhưng thuận tiện và phổ biến nhất hiện nay là phương pháp dùng ống đóng.

Trình tự phân tích :

Đặt những ống đóng hình trụ có thể tích 100cm^3 lên khu vực của thành phẫu diện đất đã được làm bằng phẳng, ít nhất phải xác định 3 lần lặp lại và như vậy phải sử dụng 3 ống song song cùng một lúc. Đặt các khuôn định hướng lên trên những ống này, sau đó dùng choòng (nêm) đặt lên trên cùng, dùng búa gỗ đóng các ống vào đất (hình 28).



Hình 28 – Dụng cụ lấy mẫu đất để xác định dung trọng

1,2 : Ống đóng có kích thước khác nhau ; 6 : Búa gỗ ; 9 : Giá đựng ống đóng ; 10 : Choòng

Nhờ hệ thống choòng và ống khuôn định hướng nên các ống đóng được đóng thẳng và lún sâu vào đất. Khi ống đóng đã lún sâu vào đất hết cỡ nhấc choòng ra, dùng dao hoặc xẻng đào, gọt, nhấc ống đóng ra. Dùng tấm gỗ mỏng rồi lật ngược ống đóng, dùng dao sắc gọt bằng phẳng đất ở mặt đáy dưới của ống. Đậy nắp, sau đó gọt phía đầu trên cũng phẳng như vậy. Lau chùi sạch đất dính bám xung quanh ống. Dùng dao xén cạy đất trong ống vào hộp nhôm lớn trường hợp không có hộp nhôm thì dùng túi poliêtilen hoặc giấy bóng mờ đã gập sẵn thành phong bì. Đem cân hộp nhôm cùng với đất tới độ chính xác 0,01g. Sau đó có thể sử dụng mẫu đất này để xác định tỉ trọng thể rắn, độ hút ẩm cực đại...

Biết được khối lượng hộp nhôm (hoặc khối lượng túi poliêtilen, túi giấy) khối lượng đất và hộp có thể tính được khối lượng đất khô tuyệt đối. Biết khối lượng đất khô tuyệt đối và thể tích của ống đóng ta sẽ tính được dung trọng theo biểu mẫu sau :

BIỂU MẪU GHI VÀ TÍNH KẾT QUẢ DUNG TRỌNG CỦA ĐẤT

Đất, cây trồng, địa điểm	Tầng, độ sâu (cm)	Số hộp nhôm hoặc túi	Khối lượng bì (hộp nhôm hoặc túi (a)	Khối lượng bì + đất ướt (b)	Khối lượng đất tươi (P_1 = b − a)	Độ hút ẩm không khí (W_{hy} %)	Khối lượng đất khô tuyệt đối $P = \frac{P_1 . 100}{100 + W_{hy}}$	Thể tích ống đóng (V) cm^3	Dung trọng $dv = \frac{P}{V}$

Theo thang đánh giá của Katrinski, dung trọng nhỏ hơn $1g/cm^3$ là đất giàu chất hữu cơ ; từ 1,0 đến 1,1 – điển hình cho đất trồng trọt ; 1,2 – đất hơi chặt ; 1,3 đến 1,4 – đất quá chặt ; 1,4 – 1,6 – điển hình cho tầng đế cày ; 1,6 đến 1,8 – tầng tích tụ quá chặt.

5. Xác định độ xốp của đất

Độ xốp hay độ hổng của đất là tổng thể tích những lỗ hổng, khe nhỏ trong đất được tính ra % so với thể tích đất và được tính theo công thức :

$$P = \frac{V_1}{V_2} . 100$$

P : độ hổng chung của đất, tính ra %

V_1 : thể tích những lỗ hổng, tính ra cm^3

V_2 : thể tích của đất, tính ra cm^3

Vì độ xốp của đất liên quan mật thiết đến tỉ trọng thể rắn và dung trọng của đất, cho nên để xác định độ xốp của đất người ta có thể sử dụng phương pháp gián tiếp, thông qua việc xác định tỉ trọng thể rắn và dung trọng của đất. Mối liên quan giữa các đại lượng này được thể hiện ở công thức :

$$P(\%) = \frac{d - d_v}{d} . 100$$

P% : độ xốp chung của đất, tính ra %

d : tỉ trọng thể rắn của đất, g/cm^3

d_v : dung trọng của đất, g/cm^3.

Độ xốp có giá trị lớn về mặt nông học, nó đặc trưng cho những loại đất có cấu trúc và độ phì cao. Càng xuống sâu, độ xốp càng giảm. Katrinski đã nêu ra thang đánh giá độ xốp như sau :

Độ xốp (%)	*Loại đất*
> 70	– Đất rỗng
55 – 65	– Tầng canh tác của đất trồng trọt
50 – 55	– Đạt yêu cầu đối với tầng canh tác
< 50	– Không đạt yêu cầu đối với tầng canh tác
25 – 40	– Đặc trưng cho những tầng tích tụ.

6. Xác định độ trữ ẩm của đất

Khả năng giữ nước của đất trong điều kiện có dòng chảy tự do chảy qua gọi là khả năng giữ nước. Lượng nước được đất giữ trong điều kiện trên gọi là độ trữ ẩm. Độ trữ ẩm biểu thị ra % khối lượng hoặc thể tích đất khô.

Khả năng giữ nước và độ trữ ẩm của đất là một trong những đặc tính của độ phì nhiêu. Nhờ đó, nước được giữ và tích lũy lâu dài, cung cấp cho cây trồng.

a) Xác định độ trữ ẩm cực đại. Về tên gọi độ trữ ẩm cực đại hiện nay chưa thống nhất, có nhiều thuật ngữ khác nhau : độ trữ ẩm bé nhất (Rode (1963) ; độ trữ ẩm giới hạn (Rozop, 1936) ; độ trữ ẩm đồng ruộng (Taylor, 1932) ; độ trữ ẩm chung (Katrinski, 1970). Một số tác giả gọi là độ trữ ẩm mao quản. Ở Việt Nam, khái niệm này cũng được gọi theo những cách khác nhau như : độ trữ ẩm ngoài đồng, sức chứa nước tối đa, ẩm dung đồng ruộng, sức chứa ẩm lớn nhất... Tuy có nhiều cách gọi nhưng bản chất của chúng chỉ là một.

Độ trữ ẩm cực đại là lượng nước lớn nhất mà đất giữ lại được sau khi có nước trọng lực chảy qua và không có hiện tượng dâng mao quản từ các mạch nước ngầm lên. Ở đây cần lưu ý và hiểu đúng hai khái niệm "độ trữ ẩm" và "độ ẩm". Độ trữ ẩm thể hiện khả năng giữ nước của đất. Mỗi một loại đất khả năng giữ nước sẽ khác nhau và là một hằng số. Còn độ ẩm là một biến số, thay đổi phụ thuộc vào thời tiết, độ ẩm tương đối của không khí, thời gian phơi mẫu đất...

Trình tự phân tích : Chọn khu đất đặc trưng, diện tích 2m × 2m hoặc 1m × 1m, xung quanh đắp bờ hoặc ngăn bằng khung gỗ để bảo vệ và định vị diện tích.

Sơ bộ xác định độ ẩm đất, tỉ trọng, dung trọng, tính lượng nước có sẵn, lượng nước cần tưới thêm để bão hòa theo những độ sâu theo yêu cầu đặt ra.

LƯỢNG NƯỚC CẦN THIẾT ĐỂ BÃO HÒA HOÀN TOÀN CÁC TẦNG ĐẤT

Độ sâu tầng đất (cm)	Dung trọng (g/cm^3)	Tỉ trọng	Độ xốp (%)	Độ ẩm đất có sẵn		Độ ẩm đất khi bão hòa hoàn toàn	
				%	mm	%	mm
0 – 15	1,20	2,64	55,3	18	21,6	46,0	55,3
15 – 28	1,20	2,66	55,5	20	24,0	46,0	55,5
0 – 120					131,2		265,3

Độ ẩm tính bằng % khối lượng khi đất hoàn toàn được bão hòa sẽ bằng độ xốp chia cho dung trọng. Độ ẩm còn có thể tính ra mm. Như ở ví dụ trong bảng, muốn bão hòa hoàn toàn tầng đất 0 – 120cm cần 265,3mm hoặc 2653m^3 nước cho 1ha. Ở trường hợp này trong đất đã chứa sẵn 1312 m^3/ha, để bão hòa đến độ trữ ẩm toàn phần thì cần : 2653m^3 – 1312m^3 = 1341m^3 nước cho 1ha, còn đối với diện tích thí nghiệm là 1m^2 thì ít hơn 10000 lần, nghĩa là bằng 0,1341m^3. Tính lượng nước phải tăng lên gấp 1,5 lần để đảm bảo cho thấm được đến toàn bộ độ sâu vì sẽ có một lượng nước bị mất ra ngoài ô thí nghiệm. Lượng nước cần phải tưới thêm là 0,134 × 1,5 = 0,201m^3 hoặc bằng 201 lít.

Lượng nước đã được tính đem tưới vào ô thí nghiệm, tưới nhẹ không cho đất trên mặt bị xói lở và luôn luôn giữ cho mức nước có một cột nước cao 5cm. Sau khi nước được thấm hết vào đất, dùng nilông đậy lại và trên phủ một lớp rơm rạ, cỏ rác để giữ không cho nước bốc hơi. Đối với đất cát pha, đất cát và đất thịt nhẹ thì để sau khoảng 1 ngày đêm cho chảy thoát hết nước trọng lực, còn đất thịt và đất sét thì để sau khoảng 2 – 3 ngày đêm. Hơn nữa, nếu ô thí nghiệm đặt ở khu vực có cây trồng thì một phần nước bị cây sử dụng. Sau thời hạn được quy định, dỡ, thu dọn lớp đậy và xác định độ ẩm ở khu vực trung tâm ô thí nghiệm với 3 lần nhắc lại tới độ sâu cần tìm. Dùng khoan lấy mẫu ở từng độ sâu 10cm. Mẫu đất sấy ở 105°C đến khối lượng không đổi. Kết quả xác định ghi theo hướng dẫn ở bảng sau :

BIỂU MẪU GHI KẾT QUẢ XÁC ĐỊNH ĐỘ ẨM ĐẤT

Loại đất	Tầng và độ sâu (cm)	Dung trọng	Số hộp nhôm	Khối lượng hộp nhôm (g)	Khối lượng hộp nhôm + đất ướt		Sau khi sấy ở 105°C			Khối lượng nước mất (g) a	Khối lượng đất khô (g) b	Độ ẩm đất %	
					I	II	I	II	III			%	mm

Độ ẩm đất tính ra % theo công thức :

$$W_t(\%) = \frac{a}{b} . 100$$

a : lượng nước mất sau khi sấy (g).

b : khối lượng đất khô tuyệt đối (g).

$W_t(\%)$: độ ẩm đất tính theo %

b) Xác định độ trữ ẩm mao quản. Độ trữ ẩm mao quản là lượng nước được đất giữ trên mực nước ngầm bởi lực mao quản. Trị số độ trữ ẩm mao quản không những phụ thuộc vào bề dày của lớp đất (viền mao quản) mà còn phụ thuộc vào độ cao tầng đất so với mực nước ngầm. Độ cao càng thấp, độ trữ ẩm mao quản càng lớn. Độ trữ ẩm mao quản phụ thuộc vào độ hổng chung và độ hổng mao quản.

Trình tự phân tích : Đất ở trạng thái khô không khí đã giã và rây qua rây cỡ 1mm, sau đó cho vào ống thủy tinh hình tròn thủng 2 đầu và nện hơi chặt. Một đầu bịt bằng vải màn và tốt hơn buộc thêm một ít giấy lọc để chìa ra, tạo điều kiện để giấy lọc hút nước lên thấm dần vào đất. Đầu ống bịt vải màn được đặt tiếp xúc với một bình nước nhờ cái giá cố định. Qua 24 giờ tất cả các lỗ hổng mao quản của đất sẽ bão hòa nước. Sau đó lấy mẫu đất để xác định độ ẩm. Độ ẩm của đất lúc này tương ứng với độ trữ ẩm mao quản.

Kết quả được tính ra % so với khối lượng đất khô. Trình tự xác định độ ẩm và tính kết quả đã trình bày ở mục "xác định độ ẩm đất".

c) Xác định độ trữ ẩm toàn phần. Độ trữ ẩm toàn phần là lượng nước lớn nhất có thể chứa trong đất hay tầng đất khi tất cả các lỗ hổng đều bão hòa nước. Về trị số, độ trữ ẩm toàn phần bằng trị số độ hổng chung của đất. Trường hợp này xuất hiện khi trong đất có tầng không thấm nước (tầng đá ong, tầng băng vĩnh cửu...) và ở các tầng đất phân bố liền với mực nước ngầm. Ở độ trữ ẩm toàn phần, trong đất có tất cả các dạng nước. Một phần nước này tuy dễ tiêu đối với thực vật nhưng lại trở nên "thừa", gây tình trạng úng và lầy lội. Thực tiễn cho thấy, thực vật phát triển tốt nhất ở độ ẩm đất tương ứng với 60 – 70% so với độ trữ ẩm toàn phần.

Trình tự phân tích : Để xác định độ trữ ẩm toàn phần thường tiến hành với những dụng cụ chuyên dụng là những ống thủy tinh hình tròn và đáy có những lỗ thủng (trường hợp không có dụng cụ chuyên dụng, có thể sử dụng ống đong thủng 2 đầu). Ống có đường kính 5 – 6cm, cao 15 – 18cm. Đất khô không khí, giã và rây qua rây cỡ 1mm. Đất được chứa vào ống chiếm khoảng 3/4 chiều cao, đất đổ từ từ và nén hơi chặt, sau đó cân trên cân kĩ thuật. Căn cứ vào hiệu số khối lượng ống + đất và khối lượng của ống ta biết khối lượng đất.

Ống đựng đất được đậy kín bằng tấm kính và đặt vào trong chậu đựng nước, sao cho mức nước trong chậu ngang với mặt đất ở trong ống. Để qua 24giờ nhờ giá kẹp.

Lấy bình ra để khoảng 2 – 3 phút cho nước ở thành bình chảy hết, lau khô rồi cân. Tỉ lệ giữa khối lượng nước do đất hút và giữ qua 24 giờ với khối lượng đất khô tính ra % là độ trữ ẩm toàn phần.

Độ trữ ẩm toàn phần tính ra % so với khối lượng đất khô tuyệt đối tính theo công thức :

$$W_{tp}\ (\%) = \frac{c - a - d}{d} \times 100$$

a : khối lượng ống

d : khối lượng đất khô tuyệt đối

c : khối lượng ống + đất sau khi bão hòa nước

Lượng nước do đất hút và giữ : c − (a + d) = c − a − d

Chương 5

XÁC ĐỊNH CHẤT HỮU CƠ VÀ NITƠ TỔNG SỐ TRONG ĐẤT

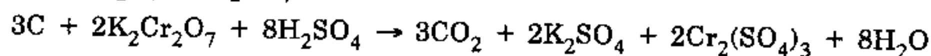
1. Xác định chất hữu cơ trong đất

Sự tích lũy chất hữu cơ ở dạng mùn trong đất là do hoạt động vi sinh vật, thực vật cũng như bón phân hữu cơ. Hàm lượng, thành phần mùn quyết định hình thái và các tính chất lí, hóa học, độ phì của đất. Trong tầng mùn chứa gần 90% nitơ ở dạng dự trữ và phần lớn các nguyên tố dinh dưỡng như P, S, nguyên tố vi lượng, là kho dự trữ chất dinh dưỡng cho cây trồng.

Hiện có nhiều phương pháp xác định chất hữu cơ của đất : phương pháp đốt khô, phương pháp đốt ướt (Chiurin, Walkley − Black), phương pháp đốt mùn trong tủ sấy 150°C, thời gian 20 phút (Nikitin) và phương pháp oxi hóa mùn 24 giờ ở nhiệt độ 20°C (P. Antanova). Sau đây trình bày một số phương pháp phổ biến ở Việt Nam.

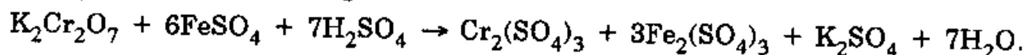
a) Xác định chất hữu cơ theo phương pháp Chiurin

− *Nguyên lí phương pháp.* Chất hữu cơ của đất, dưới tác dụng của nhiệt độ, bị dung dịch $K_2Cr_2O_7 + H_2SO_4$ (1 : 1) oxi hóa :



$$3C + 2K_2Cr_2O_7 + 8H_2SO_4 \rightarrow 3CO_2 + 2K_2SO_4 + 2Cr_2(SO_4)_3 + 8H_2O$$

Lượng $K_2Cr_2O_7$ còn dư được dùng dung dịch muối có tính khử là $FeSO_4$ hay muối Morh ($FeSO_4 \cdot (NH_4)_2SO_4 \cdot 6H_2O$) để chuẩn :



$$K_2Cr_2O_7 + 6FeSO_4 + 7H_2SO_4 \rightarrow Cr_2(SO_4)_3 + 3Fe_2(SO_4)_3 + K_2SO_4 + 7H_2O.$$

Chất chỉ thị cho quá trình chuẩn độ này thường dùng là axit phenylanthranilic ($C_{13}H_{11}O_2N$), màu chuyển từ đỏ mận sang xanh lá cây, hoặc điphenylamin ($C_{12}H_{11}N$), màu sẽ chuyển từ lam tím sang xanh lá cây.

Trong quá trình chuẩn độ, Fe^{3+} tạo thành có thể ảnh hưởng tới quá trình chuyển màu của chỉ thị, vì vậy trước khi chuẩn độ có thể cho thêm một lượng nhỏ H_3PO_4 hoặc muối chứa ion F^- để tạo phức không màu với Fe^{3+}.

- *Trình tự phân tích :*

Đất để phân tích mùn và đạm phải được chuẩn bị cẩn thận : lấy 5 – 10g đất đã rây qua rây 1mm, nhặt hết xác thực vật rồi giã nhỏ, rây qua rây 0,25mm, trộn đều.

Dùng cân phân tích cân 0,2g (đất nghèo mùn – dưới 1% thì cân 0,4g, còn đất giàu mùn thì cân 0,1g) cho vào bình tam giác 100ml.

Dùng burét cho từ từ đúng 10ml $K_2Cr_2O_7$ 0,4N vào bình. Lắc nhẹ bình, tránh để đất bám lên thành bình. Đậy bình bằng một chiếc phễu nhỏ. Đun trên bếp cách cát cho dung dịch sôi ở nhiệt độ 180°C đúng 5 phút.

Lấy ra để nguội, dùng nước thêm 10 – 20ml vào xung quanh thành bình để rửa đicromat bám vào. Cho vào 4 giọt chỉ thị axit phenylanthranilic 0,2% và chuẩn độ bằng dung dịch muối Morh 0,2N đến khi dung dịch chuyển từ màu tím mận sang màu xanh lá cây.

Đồng thời làm một thí nghiệm trắng : cân 0,2g đất đã nung hết chất hữu cơ cho vào bình tam giác, cho vào đúng 10 ml $K_2Cr_2O_7$ 0,4N và tiến hành các thủ tục như phân tích mẫu.

- *Tính kết quả :*

$$\text{Chất hữu cơ (\%)} = \frac{(V_o - V) \cdot N \cdot 0{,}003 \cdot 1{,}724 \cdot 100}{a} \times K$$

V_o : số ml muối Morh dùng chuẩn độ thí nghiệm trắng

V : số ml muối Morh dùng chuẩn độ mẫu

N : nồng độ đương lượng của dung dịch muối Morh

a : lượng mẫu đất lấy phân tích (g)

K : hệ số chuyển đổi từ mẫu khô không khí sang mẫu khô tuyệt đối.

- *Hóa chất :*

+ $K_2Cr_2O_7$ 0,4N trong H_2SO_4 (1 : 1) : cân 40g $K_2Cr_2O_7$ tinh khiết, nghiền bằng chầy trong cối sứ, hòa tan trong 500 ml nước. Nếu cần, đốt nóng nhẹ để tan hoàn toàn. Để nguội, lọc rồi định mức đến 1 lít. Đổ dung dịch vào bình định mức 2 lít rồi rót *từ từ* H_2SO_4 đặc (d = 1,84) vào, vừa rót vừa lắc nhẹ, nếu quá nóng thì phải để nguội rồi mới rót tiếp, cho đến thể tích 2 lít. Nồng độ của dung dịch này được kiểm tra bằng dung dịch $FeSO_4$ (hoặc muối Morh) 0,2N.

Có trường hợp sau khi pha xong, để một vài hôm thấy có tinh thể màu đỏ hình kim xuất hiện, trong trường hợp này chỉ cần thêm ít nước, lắc đều tinh thể sẽ mất.

+ Dung dịch muối Morh 0,2N : cân 80g $(NH_4)_2SO_4 \cdot FeSO_4 \cdot 6H_2O$ hòa tan trong nước, thêm 20 ml H_2SO_4 đặc, định mức đến 1 lít. Nồng độ của dung dịch này được xác định bằng cách chuẩn độ với dung dịch $KMnO_4$ 0,1N : lấy 10ml muối Morh cho vào bình tam giác 250ml, thêm 1ml H_2SO_4 đặc, 50ml nước cất chuẩn độ bằng dung dịch $KMnO_4$ 0,1N đến khi xuất hiện màu hồng bền trong 1 phút.

+ Chỉ thị axit phenylanthranilic : 0,2g hòa tan trong 100ml Na_2CO_3 0,2%. Sự hóa màu đen dần về sau này không ảnh hưởng gì đến việc sử dụng chỉ thị.

– *Chú thích :*

+ Trong phương pháp này phải chú ý khống chế nhiệt độ khi đun oxi hóa mẫu. Nhiệt độ cao quá 180°C sẽ dẫn tới việc phân hủy cromic. Nikitin B.A. (1972) đề nghị oxi hóa chất hữu cơ bằng cách đun trong tủ sấy tại nhiệt độ 150°C trong 20 phút.

+ Đất chứa nhiều clorua cũng ảnh hưởng đến kết quả phân tích vì có một phần $Cr_2O_7^{2-}$ tiêu tốn cho sự oxi hóa Cl^- : $Cr_2O_7^{2-} + 6Cl^- + 14H^+ \rightarrow 2Cr^{3+} + 3Cl_2 + 7H_2O$

Vì vậy, khi phân tích đất mặn cần rửa sạch hết Cl^- trước khi phân tích chất hữu cơ.

b) Xác định chất hữu cơ theo phương pháp Walkley–Black

– *Nguyên lí phương pháp :*

Phương pháp dựa trên nguyên tắc oxi hóa chất hữu cơ của đất bằng dung dịch $K_2Cr_2O_7$. Sau đó chuẩn lại lượng $K_2Cr_2O_7$ dư, từ đó tính được hàm lượng chất hữu cơ. Điểm khác ở phương pháp này so với phương pháp Chiurin ở chỗ : nhiệt dùng cho quá trình oxi hóa được tạo ra do quá trình hòa tan H_2SO_4 đặc trong dung dịch kali đicromat.

– *Trình tự phân tích :*

Cân 1 gam đất khô không khí cho vào bình tam giác 500ml.

Thêm 10ml dung dịch $K_2Cr_2O_7$ 1N.

Thêm 20ml H_2SO_4 đặc vào (thêm nhanh theo khả năng có thể thêm).

Lắc nhẹ và giữ 30 phút.

Thêm 200ml nước cất và 10ml H_3PO_4 85%.

Thêm 1ml chỉ thị điphenylamin.

Chuẩn độ bằng dung dịch $FeSO_4$ 0,5N đến khi dung dịch có màu xanh lá cây.

– *Hóa chất :*

Hòa tan 49,039g $K_2Cr_2O_7$ trong nước cất và thêm thể tích đến 1 lít.

$FeSO_4$ 0,5N : hòa tan 139g $FeSO_4.7H_2O$ trong 800 ml nước, thêm 20ml H_2SO_4 đặc rồi định mức đến thể tích 1 lít.

Điphenylamin : hòa tan 0,5g chỉ thị trong 20 ml nước rồi thêm tiếp 100 ml H_2SO_4 đặc.

Tính kết quả :

$$C(\%) = N.\frac{V_o - V_1}{a} \times 0,39 \times K$$

N : nồng độ đương lượng của muối $FeSO_4$

V_o, V_1 : là thể tích muối $FeSO_4$ dùng để chuẩn độ thí nghiệm trắng và chuẩn độ mẫu.

a : lượng mẫu lấy để phân tích (g)

K : hệ số chuyển đổi từ mẫu khô không khí sang mẫu khô tuyệt đối

$0,39 = 3 \times 10^{-3} \times 100\% \times 1,3$; 3 là đương lượng gam của C, 1,3 là hệ số "bù" cho quá trình oxi hóa chưa hoàn toàn chất hữu cơ trong phương pháp này.

% chất hữu cơ = 2 × C%

Trước đây đã dùng hệ số 1,72, nhưng hiện nay thấy hệ số 2 là thích hợp hơn (ISRIC, 1986).

– *Chú thích :*

+ Trước khi chuẩn độ lượng $K_2Cr_2O_7$ còn dư (ở cả 2 phương pháp) cần phải để nguội dung dịch oxi hóa, nếu không một phần Fe^{2+} dùng để chuẩn lượng $K_2Cr_2O_7$ còn dư có thể bị oxi không khí oxi hóa.

+ Với 10ml $K_2Cr_2O_7$ 1N chỉ có thể oxi hóa được tối đa 25 mgC vì vậy khi sử dụng phương pháp Walkley–Black cần hết sức chú ý lượng mẫu lấy đi phân tích.

Đối với những đất hàm lượng mùn < 2,6% có thể lấy 1g mẫu đem đi phân tích ; nếu hàm lượng mùn cao hơn nên lấy 0,2g đất còn khi hàm lượng mùn > 13, 5% thì lượng mẫu lấy là 0,1g (Lê Đức – Tạp chí khoa học đất 10–1998).

+ Nếu dùng chỉ thị ferroin (0,695g $FeSO_4.7H_2O$) và 1,485g 0–phenaltrolin amonohidrat ($C_{12}H_8N_2.H_2O$) trong 100 ml nước thì dùng 4 giọt chỉ thị – khi kết thúc chuẩn độ màu chuyển từ tối sang đỏ.

+ Có thể dùng phương pháp so màu để xác định chất hữu cơ bằng cách đo màu Cr^{3+} tại bước sóng 625nm. Dùng saccarozơ ($C_{12}H_{12}O_{11}$) làm dung dịch chuẩn để khử Cr^{6+} trong $K_2Cr_2O_{11}$ làm dung dịch chuẩn để khử Cr^{6+} trong $K_2Cr_2O_7$ thành Cr^{3+}.

2. Xác định nitơ trong đất

Nitơ (đạm) là một trong những nguyên tố dinh dưỡng quan trọng của thực vật. Hàm lượng nitơ tổng số ở lớp đất mặt dao động trong giới hạn từ 0,10 – 0,85%. Theo chiều sâu của phẫu diện, cũng giống như chất hữu cơ, hàm lượng nitơ tổng số giảm dần. Hầu hết nitơ trong đất đều ở dạng hữu cơ (95% – 99%), chỉ một phần rất nhỏ là ở dạng vô cơ (1 – 5%). Trong đa số các đất, hàm lượng nitơ trong chất mùn chiếm khoảng 5% chất mùn. Hợp chất chứa nitơ trong đất rất phức tạp và chưa được nghiên cứu đầy đủ. Gần đây, nhờ các phương pháp phân tích sắc kí, người ta biết rằng 40 – 50% nitơ ở lớp đất cày là ở dạng axit amin. Cây trồng chỉ sử dụng được nitơ trong đất khi đã chuyển hóa thành dạng vô cơ (nitơ hữu cơ trong mùn → axit amin → amit → amôni nitrat). Mức độ phân giải này tùy thuộc vào bản chất của dạng nitơ hữu cơ (nếu C/N càng cao, nitơ hữu cơ càng khó phân giải), vào nhiệt độ, độ ẩm, pH... của đất.

Nitơ tổng số trong đất là một chỉ tiêu thường được phân tích để đánh giá độ phì nhiêu tiềm tàng của đất. Để phân tích đạm tổng số, người ta phân hủy chất hữu cơ để chuyển nitơ sang dạng amoni. Quá trình phân hủy có thể thực hiện theo nhiều phương pháp khác nhau :

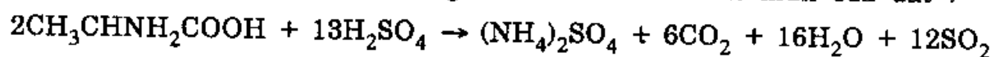
– Dùng H_2SO_4 đặc kết hợp với chất xúc tác. Phương pháp Kenđan (Kjeldahl, 1883) dùng H_2SO_4 đặc đun sôi với chất xúc tác là selen hoặc $CuSO_4$.

– Dùng H_2SO_4 đặc kết hợp với chất oxi hóa mạnh. Chiurin (1933) dùng H_2SO_4 đặc đun sôi với $K_2Cr_2O_7$ hay CrO_3. Một số tác giả khác dùng H_2SO_4 đặc kết hợp với $KClO_4$ và đun sôi (Ghinbuoc, Meseriacov, 1963).

Sau khi đã chuyển toàn bộ nitơ trong đất sang dạng amoni người ta dùng phương pháp chuẩn độ hoặc so màu để xác định lượng nitơ tổng số trong đất.

Xác định nitơ tổng số theo phương pháp Kenđan (Kjeldahl)

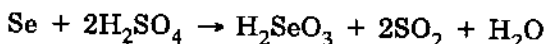
Phân hủy mẫu theo phương pháp Kenđan : Khi cho chất hữu cơ tác dụng với axit sunfuric đun sôi, cacbon và hiđro của chất hữu cơ được oxi hóa đến CO_2 và H_2O, nitơ còn lại ở dạng khử và chuyển sang dạng amoni sunfat. Ví dụ như phản ứng của axit sunfuric với alanin, một trong các cấu tử của chất mùn của đất :



$$2CH_3CHNH_2COOH + 13H_2SO_4 \rightarrow (NH_4)_2SO_4 + 6CO_2 + 16H_2O + 12SO_2$$

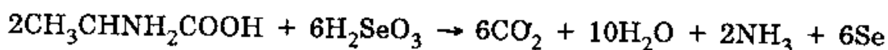
SO_2 tạo thành trong quá trình phản ứng có tác dụng ngăn ngừa sự oxi hóa nitơ. Để tránh mất SO_2 trong quá trình phân tích nên đậy bình Kenđan bằng một chiếc phễu nhỏ. Phễu này có tác dụng ngưng tụ hơi sunfurơ, hơi đó sẽ chảy lại vào trong bình.

Để đẩy nhanh quá trình oxi hóa phân hủy chất hữu cơ, có thể sử dụng thêm chất xúc tác như $CuSO_4$, HgO, Se hay hỗn hợp của chúng. Ví dụ như khi dùng bột Se, Se sẽ tác dụng với axit sunfuric tạo thành axit selenơ.



$$Se + 2H_2SO_4 \rightarrow H_2SeO_3 + 2SO_2 + H_2O$$

H_2SeO_3 sẽ tác dụng với chất hữu cơ, oxi hóa cacbon và hiđro đến CO_2 và H_2O và khử về Se nguyên tố :



$$2CH_3CHNH_2COOH + 6H_2SeO_3 \rightarrow 6CO_2 + 10H_2O + 2NH_3 + 6Se$$

Tất cả quá trình làm việc với Se cần tiến hành trong tủ hút vì Se độc.

Để nâng cao nhiệt độ sôi, có thể thêm vào trong bình muối kali sunfat. Theo những dẫn liệu của Baker, nhiệt độ sôi của H_2SO_4 đặc là 329°C, nhiệt độ sôi của axit này khi có chứa 1g K_2SO_4 trong 1 ml là 365°C, còn khi có chứa 2g/ml K_2SO_4 là 410°C.

Sự phân hủy chất hữu cơ xảy ra từ từ và có thể không hoàn toàn nếu tiến hành phân hủy mẫu ở nhiệt độ thấp hơn 360°C, khi tiến hành ở nhiệt độ cao hơn 410°C có thể làm mất nitơ (Jackson, 1962).

Phương pháp Kenđan ra đời từ năm 1883 và được sử dụng rộng rãi trong thực tiễn. Tuy nhiên, theo ý kiến một số tác giả, để xác định nitơ tổng số trong những đất mà hàm lượng amoni bị cố định trong mạng lưới tinh thể của khoáng sét cao thì nên phân hủy mẫu bằng axit flohiđric.

Nghiên cứu của Moghilevkina I.A. (1970) chỉ ra rằng : ở tỉ lệ thích hợp giữa H_2SO_4, K_2SO_4, Se và thời gian tro hóa lâu, tất cả amoni bị cố định đều có thể xác định bằng phương pháp Kenđan. Sự tro hóa những đất có hàm lượng amoni bị cố định cao cần phải tiến hành qua 5 giờ sau khi dung dịch trong bình trở nên sáng.

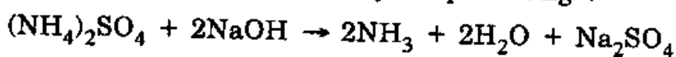
Cần thiết phải tro hóa lâu để giải phóng nitơ từ một số các hợp chất hữu cơ. Các hợp chất dị vòng như piridin, dẫn xuất của quinolin, đặc biệt bền vững khi phân hủy. Khi có mặt loại hợp chất như thế, việc tạo nên dung dịch sáng màu không có nghĩa là đã phân hủy hết chất hữu cơ, chỉ khi đun nóng lâu mới có thể phân hủy hết chất hữu cơ được. Những hợp chất dị vòng loại piridin và pirimidin có tồn tại trong đất. Sự phân hủy không hoàn toàn hợp chất hữu cơ khi phân tích đất có thể dẫn đến việc thu nhận được kết quả phân tích thấp.

Sự phân hủy không hoàn toàn chất hữu cơ có thể quan sát thấy khi phân tích đất chứa các đoàn lạp, các hợp chất gắn kết của sắt, bởi vì các chất này cuối cùng

vẫn không hòa tan trong H_2SO_4 đặc. Trong những trường hợp như vậy cần phải thấm ướt mẫu đất bằng nước và sau đó thêm H_2SO_4 đặc.

Định lượng nitơ : Khi tiến hành phân tích theo phương pháp Kenđan, nitơ chuyển sang dạng amoni sunfat. Để xác định nitơ ở dạng này có thể dùng phương pháp chuẩn độ hoặc so màu.

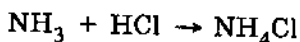
Cất và chuẩn độ xác định amoniac. Dùng kiềm đặc cho vào bình cất có chứa dung dịch sau khi phân giải mẫu, khi đó xảy ra phản ứng :



$$(NH_4)_2SO_4 + 2NaOH \rightarrow 2NH_3 + 2H_2O + Na_2SO_4$$

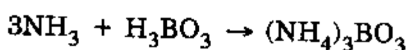
Dùng axit hấp thụ NH_3 bay ra. Thường dùng hai loại axit sau :

Dùng một lượng dư HCl hay H_2SO_4 chuẩn :



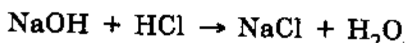
$$NH_3 + HCl \rightarrow NH_4Cl$$

Dùng axit boric 3% :



$$3NH_3 + H_3BO_3 \rightarrow (NH_4)_3BO_3$$

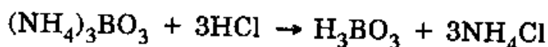
Nếu dùng axit mạnh HCl hay H_2SO_4 để hấp thụ NH_3 thì sau đó dùng NaOH chuẩn để chuẩn độ lại lượng axit thừa đó :



$$NaOH + HCl \rightarrow NaCl + H_2O$$

chỉ thị dùng cho phép chuẩn độ này có thể là phenolphtalein hay metyl dacam. Từ lượng axit ban đầu và lượng axit dư, tính ra lượng axit đã phản ứng với NH_3, từ đó tính được lượng NH_3.

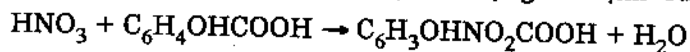
Nếu dùng axit boric để hấp thụ NH_3 thì dùng axit chuẩn để chuẩn lại lượng sản phẩm tạo thành :



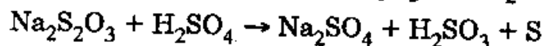
$$(NH_4)_3BO_3 + 3HCl \rightarrow H_3BO_3 + 3NH_4Cl$$

Chỉ thị dùng cho phép chuẩn độ này có thể là hỗn hợp bromocresol xanh và metyl đỏ hoặc hỗn hợp metyl đỏ và metilen xanh. Từ lượng axit tác dụng với sản phẩm tạo thành, tính được hàm lượng NH_3.

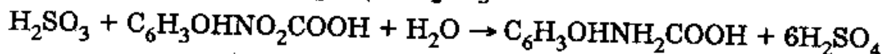
Cần chú ý rằng phương pháp Kenđan là phương pháp chuẩn hiện nay để xác định đạm tổng số. Tuy nhiên, nếu đạm ở dạng nitrat thì không thể chỉ dùng H_2SO_4 phân hủy mẫu được vì khi đó sẽ tạo thành HNO_3 bay mất. Trong trường hợp này cần cho thêm chất cố định nitrat vào. Chất cố định thường dùng là phenol hoặc axit salicilic. Cùng với sự tồn tại của chất khử, tác dụng cố định của chúng như sau :



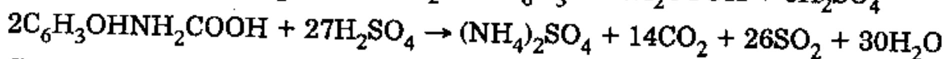
$$HNO_3 + C_6H_4OHCOOH \rightarrow C_6H_3OHNO_2COOH + H_2O$$



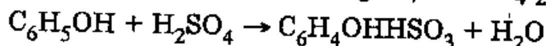
$$Na_2S_2O_3 + H_2SO_4 \rightarrow Na_2SO_4 + H_2SO_3 + S$$



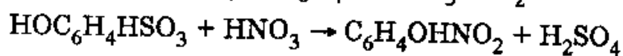
$$H_2SO_3 + C_6H_3OHNO_2COOH + H_2O \rightarrow C_6H_3OHNH_2COOH + 6H_2SO_4$$



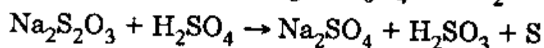
$$2C_6H_3OHNH_2COOH + 27H_2SO_4 \rightarrow (NH_4)_2SO_4 + 14CO_2 + 26SO_2 + 30H_2O$$



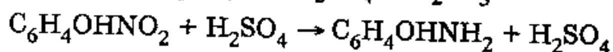
$$C_6H_5OH + H_2SO_4 \rightarrow C_6H_4OHHSO_3 + H_2O$$



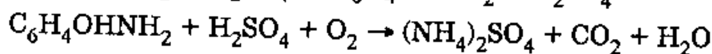
$$HOC_6H_4HSO_3 + HNO_3 \rightarrow C_6H_4OHNO_2 + H_2SO_4$$



$$Na_2S_2O_3 + H_2SO_4 \rightarrow Na_2SO_4 + H_2SO_3 + S$$



$$C_6H_4OHNO_2 + H_2SO_4 \rightarrow C_6H_4OHNH_2 + H_2SO_4$$



$$C_6H_4OHNH_2 + H_2SO_4 + O_2 \rightarrow (NH_4)_2SO_4 + CO_2 + H_2O$$

Trình tự phân tích :

Phân hủy mẫu : Cân 1 gam đất cho vào bình Kenđan khô. Cho 10g K_2SO_4, 0,5g $CuSO_4$ và 1g $FeSO_4$ (hoặc 0,2g bột Se). Thêm vào đây 25ml H_2SO_4 đặc, để mẫu thấm đều nên lắc nhẹ bình nhưng chú ý không để đất bám lên thành bình. Đậy bình bằng một chiếc phễu nhỏ rồi đặt lên bếp đun. Đun nhẹ 15 phút sau đó mới đun mạnh đến sôi. Khi dung dịch có màu xanh nhạt trong suốt thì đun tiếp 15 phút nữa. Lấy ra để nguội, chuyển toàn bộ dung dịch vào bình định mức 100ml, dùng nước cất tráng bình đốt và lên thể tích đến vạch mức.

Cất nitơ : Chuẩn bị dung dịch hấp thụ NH_3 : Lấy 30ml dung dịch axit boric 3% cho vào bình tam giác 250ml. Cho vào 3 giọt chỉ thị màu hỗn hợp, lúc này dung dịch hấp thụ sẽ có màu tím đỏ. Đầu ống sinh hàn phải ngập xuống dung dịch hấp thụ.

Cho vào một lượng NaOH 40% gấp 4 lần lượng H_2SO_4 đặc đã dùng để phân hủy mẫu (hoặc có thể căn cứ vào việc xuất hiện kết tủa màu đỏ nâu để biết lượng NaOH cho vào đã đủ chưa). Sau đó tiến hành cất. Khi có NH_3 giải phóng ra, dung dịch axit boric biến dần sang màu xanh. Cất đến khi thể tích lên đến khoảng 100ml thì dùng chỉ thị Nessler xem còn NH_3 bay ra không. Nếu chỉ thị không đổi màu chứng tỏ đã cất hết NH_3. Dùng một ít nước cất rửa qua ống sinh hàn. Lấy bình hấp thụ ra.

Chuẩn độ : Dùng dung dịch HCl 0,05N để chuẩn cho đến khi vừa xuất hiện màu tím đỏ thì ngừng.

Đồng thời cũng tiến hành làm thí nghiệm trắng : Tiến hành các bước hoàn toàn như trên nhưng không có mẫu đất.

Tính kết quả :

$$N(\%) = \frac{(V_1 - V_2) \cdot N \cdot 0,014 \cdot 100}{a}$$

Trong đó V_1, V_2 là số ml HCl dùng để chuẩn độ mẫu phân tích và mẫu trắng ; N là nồng độ đương lượng của HCl ; a là khối lượng đất khô kiệt tương ứng với thể tích dung dịch lấy đem đi cất nitơ.

Hóa chất

H_3BO_3 3% : cân 30g H_3BO_3 tinh khiết cho vào 500ml nước cất để hòa tan (nếu cần có thể đun nóng) rồi lên thể tích đến 1000ml.

HCl 0,05N : lấy 4,2ml HCl đặc (12N) pha thành 1000ml. Lắc đều, dùng $Na_2B_4O_7$ hoặc NaOH chuẩn để chuẩn độ lại.

NaOH 40 – 45% : cân 400 – 500g NaOH hòa tan thành 1000ml (thường dùng NaOH công nghiệp).

Chỉ thị màu Nessler : 15g HgI_2 và 10g KI hòa vào 500ml nước cất. Cho vào đây 40g NaOH. Khuấy đều cho tan, để lắng vài ngày rồi lọc gạn dung dịch trong vào bình màu nâu để dùng. Nếu không có sẵn HgI_2 thì pha như sau : 9g $HgCl_2$ + 15,5g KI hòa vào 500ml nước cất. Thêm 40g NaOH, khuấy đều cho tan. Để lắng vài ngày và gạn nước trong để dùng.

Hỗn hợp chỉ thị :

Hỗn hợp bromocresol xanh-metyl đỏ : Hòa tan 0,5g bromocresol xanh và 0,1g metyl đỏ trong 100ml etanol 96%. Dùng NaOH (hoặc HCl) điều chỉnh cho đến pH = 4,5 có màu tím đỏ.

Chỉ thị Tasiro : hỗn hợp metyl đỏ và metilen xanh có khoảng biến đổi màu ở pH = 5,2 - 5,6. Môi trường axit có màu tím đỏ, môi trường kiềm có màu xanh lục. Hòa 0,05g metilen xanh vào 5ml nước cất, thêm vào đây 100ml etanol và hòa thêm 0,15g metyl đỏ. Quấy đều cho tan hết, rót vào lọ nút kín và bọc giấy đen.

Phân hủy mẫu bằng H_2SO_4 kết hợp với $HClO_4$: Cân 1 gam đất cho vào bình tam giác chịu nhiệt loại 100ml, cho vào đây 5ml nước cất, sau đó là 5ml H_2SO_4 đặc (d = 1,84), đậy bình bằng một chiếc phễu nhỏ và đun cho đến khi ngừng thoát khói trắng mạnh. Lấy ra để nguội rồi cho thêm 4 giọt $HClO_4$ 70% vào (tốt nhất là nên dùng 1 ml $HClO_4$ 15%), tiếp tục đun nhẹ cho đến trắng cặn. Nếu mẫu chưa trắng thì thêm 2 - 3 giọt $HClO_4$ đặc (hoặc 0,5ml $HClO_4$ 15%) tiếp tục đun cho đến trắng mẫu. Sau đó lấy dung dịch đem cất amoniac theo phương pháp Kenđan.

Phân hủy mẫu bằng H_2SO_4 đặc và $K_2Cr_2O_7$ (Chiurin). Tùy theo lượng mùn, cân từ 0,2 đến 1g đất cho vào bình 250ml. Thêm vào 2,5ml dung dịch CrO_3 25% hay 10ml dung dịch $K_2Cr_2O_7$ 10%. Lắc bình cẩn thận để cho mẫu đất thấm đều dung dịch nhưng không để ướt quá nửa bình. Thêm vào 5ml H_2SO_4 đặc (d = 1,84), lắc đều bình. Đậy bình bằng một chiếc phễu nhỏ. Đun bình đến sôi và giữ cho sôi nhẹ trên 10 phút đến khi dung dịch xuất hiện màu xanh lục. Nếu đất giàu mùn, màu xanh lục xuất hiện ngay thì thêm 1-2 ml dung dịch $K_2Cr_2O_7$ hoặc CrO_3 nữa. Thêm 5ml H_2SO_4 đặc và đun sôi. Sau khi oxi hóa xong, dung dịch có màu xanh lục rõ, thì lấy ra khỏi bếp và để nguội. Sau đó tiến hành xác định lượng NH_3 bằng phương pháp cất như phương pháp Kenđan.

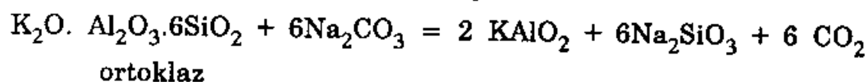
Chương 6

PHÂN TÍCH THÀNH PHẦN KHOÁNG CỦA ĐẤT

Thành phần khoáng chiếm một tỉ lệ rất lớn trong đất, phần hữu cơ chỉ chiếm vài phần trăm. Trong thành phần khoáng các hợp chất của silic chiếm tỉ lệ lớn nhất. Đặc điểm của các hợp chất này là không tan trong nước và trong các axit vì vậy để chuyển các hợp chất này sang dạng dung dịch cần phải nung chảy đất với các chất nung chảy khác nhau.

1. Phá hủy đất bằng phương pháp nung chảy với Na_2CO_3 và K_2CO_3

Sự phá hủy đất bằng kali cacbonat và natri cacbonat dựa trên việc tạo thành các muối kiềm của axit silicic và các hợp chất hòa tan khác.



$$K_2O.\ Al_2O_3.6SiO_2 + 6Na_2CO_3 = 2\ KAlO_2 + 6Na_2SiO_3 + 6\ CO_2$$

ortoklaz

Chất nung chảy thuận lợi nhất là Na_2CO_3 khan. Chất này có nhiệt độ nóng chảy tương đối thấp, ngoài ra muối natri bị các kết tủa hấp phụ ít hơn so với muối kali.

Thường sử dụng hỗn hợp K_2CO_3 và Na_2CO_3 khan làm chất nung chảy. Hỗn hợp được chuẩn bị từ hai chất trên theo tỉ lệ 1 : 1. Hỗn hợp bán trên thị trường có tên là kali natri cacbonat $KNaCO_3$ chứa 47,5% Na_2CO_3 và 52,5% K_2CO_3.

Hỗn hợp muối cacbonat natri và kali nóng chảy ở nhiệt độ 712°C thấp hơn so với nhiệt độ nóng chảy của từng muối riêng biệt : Na_2CO_3 nóng chảy ở 850°C ; K_2CO_3 ở 896°C.

Những khoáng mà trong thành phần có silic, nóng chảy ở nhiệt độ rất cao : thạch anh : 1700°C ; muscovic : 1280°C ; anortit : 1250°C ; ortoklaz : 1215°C. Những đá được tạo thành từ một vài khoáng khác nóng chảy tại nhiệt độ thấp hơn ; hỗn hợp các đá và đất cùng với chất chảy, nóng chảy ở nhiệt độ thấp hơn nữa.

Người ta sử dụng khả năng làm giảm nhiệt độ nóng chảy các silicat của chất chảy để phá hủy mẫu.

- *Trình tự phân tích :* Cân trên cân phân tích 0,5 - 1g đất đã được nghiền nhỏ và rây, cho vào chén platin sạch đã biết khối lượng.

Cân trên cân kĩ thuật 5g Na_2CO_3 khan, tinh khiết hóa học hoặc 5g hỗn hợp kali natri cacbonat. Khi phá hủy đất cát, lượng chất nóng chảy lấy là 4g. Để oxi hóa sắt (II) oxit khi phá hủy đất lấy thụt người ta thêm vào chất nóng chảy khoảng 3g kali hay natri nitrat.

Đồng thời cũng lấy một lượng chất nóng chảy như vậy để làm thí nghiệm kiểm tra độ tinh khiết của thuốc thử để sau này tính các nguyên tố.

Để lại khoảng 1g chất nóng chảy, lượng còn lại chia thành nhiều lần trộn đều với mẫu đất trong chén platin. Gõ nhẹ chén để dàn đều các chất trong chén sau đó phủ lên trên mẫu lượng chất nóng chảy (1g) còn lại.

Lau sạch đáy chén và xung quanh thành chén sau đó đặt chén vào trong lò nung nguội. Nâng dần nhiệt độ lên 900 - 1000°C, giữ ở nhiệt độ này khoảng 30 phút. Thông thường thì sau thời gian này quá trình nung chảy đã xong, đất trong chén nung chảy đã biến thành trạng thái trong suốt, giữa lõm xuống và không có bọt khí. Nếu như còn Na_2CO_3 màu của hỗn hợp sẽ còn màu trắng như ban đầu, ở phần giữa chất nung chảy còn lồi lên. Cần tiếp tục nung thêm 15 - 20 phút nữa. Lấy chén ra để nguội.

Khi nhiệt độ trong chén hạ xuống còn 80 - 90°C thì đem ngâm chén vào nước (nước ngập quãng 1/3 chén) để hỗn hợp chảy tách ra khỏi thành chén. Nếu hỗn hợp này chưa tách ra thì cho vào chén 4 - 5ml nước cất, đốt gần sôi trên bếp điện, tránh đốt nóng quá làm hỗn hợp bắn ra ngoài. Thường sau 4 - 5 phút hỗn hợp chảy sẽ tách ra.

Đổ hỗn hợp chảy vào cốc 250ml. Dùng nước cất nóng rửa chén và nắp 3 lần. Sau đó dùng HCl 1 : 1 nóng rửa 2 - 3 lần, mỗi lần 5ml. Khi rửa, dùng đũa thủy tinh đầu bịt cao su chùi nhẹ bên trong thành chén. Toàn bộ dịch rửa được đựng vào cốc 250ml nói trên. Khi dùng dung dịch HCl 1 : 1 nhất thiết phải dùng kính đồng hồ đậy miệng cốc để tránh dung dịch bắn ra ngoài cùng với CO_2 bay ra.

Cho từ từ theo thành cốc 30 ml HCl 1 : 1 vào cốc để hòa tan hỗn hợp nung chảy. Khi thấy bọt khí đã ít thì dùng đũa thủy tinh nghiền nhỏ hỗn hợp để hỗn hợp hòa tan nhanh hơn. Trong quá trình hòa tan phải dùng kính đồng hồ đậy kín miệng cốc.

Đun sôi dung dịch trên bếp cách thủy khoảng 10 đến 15 phút để hỗn hợp nóng chảy hòa tan hết. Lấy ra để nguội, dùng nước cất rửa kính đồng hồ và xung quanh thành cốc.

Dung dịch dùng để phân tích thành phần khoáng.

– *Hoá chất* :

Na_2CO_3 hoặc hỗn hợp $Na_2CO_3 + K_2CO_3$ khan, tinh khiết nghiền đến trạng thái bột mịn, giữ trong lọ kín.

HCl 1 : 1 không có Fe.

Muốn thử xem có Fe trong HCl thì tiến hành như sau :

Lấy 1 – 2 ml HCl (d = 1,19), thêm vào 5 ml nước cất, 1ml dung dịch KCNS hay NH_4CNS 10%.Nếu dung dịch có màu đỏ hoặc màu hồng chứng tỏ có Fe trong axit.

Khi axit bị bẩn bởi sắt, cần tinh chế lại axit bằng cách cất trong bình cất thủy tinh nút nhám. Khi đun nóng axit HCl đặc, lúc đầu sẽ có HCl và một phần không lớn nước được cất ra ; khi nhiệt độ là 110°C hỗn hợp thoát ra sẽ chủ yếu là nước. Vì axit HCl đặc khi cất sẽ bốc khói mạnh nên người ta thường cất axit HCl loãng, thường là HCl 1 : 1.

2. Xác định silic

Hàm lượng tổng số SiO_2 trên mặt đất dao động trong khoảng 43 – 80%.

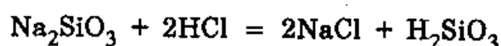
Sự phân bố SiO_2 theo phẫu diện đặc trưng cho từng loại đất và đặc trưng cho quá trình hình thành đất.

Đất có hàm lượng SiO_2 cao thường là loại đất có thành phần cơ giới nhẹ, khả năng giữ nước, giữ màu kém, nghèo chất dinh dưỡng. Vì thế hàm lượng SiO_2 là một chỉ tiêu tốt để đánh giá sự bạc màu hóa của đất.

Hàm lượng SiO_2 trong các cấp hạt cũng khác nhau, hạt càng nhỏ thì hàm lượng SiO_2 càng thấp.

2.1. Phương pháp gelatin – HCl tách axit silicic

Khi cho natri silicat tác dụng với axit HCl, axit meta silicic sẽ được tách ra :



$$Na_2SiO_3 + 2HCl = 2NaCl + H_2SiO_3$$

H_2SiO_3 chuyển vào dung dịch dưới dạng keo, mixel keo là axit silicic mang điện tích âm, lớp điện kép là ion H^+. Khi thêm HCl vào, cân bằng ion sẽ bị phá hủy và dẫn đến việc tụ keo.

$SiO_2.nH_2O$ lắng xuống đáy dưới dạng kết tủa đông tụ màu trắng. Sự tụ keo sẽ hoàn toàn hơn khi trong dung dịch có gelatin, mang điện tích dương trong các môi trường axit mạnh. Gelatin là keo lưỡng tính có nhóm axit (cacboxyl) và nhóm bazơ (amin).

Trình tự phân tích :

Đặt cốc đựng dung dịch HCl chứa các chất sau khi nung chảy lên bình cách thủy sôi, chưng cho đến trạng thái sệt.

Lấy cốc ra rồi thêm vào cốc 20ml HCl đặc, khuấy đều và giữ yên 10 – 12 giờ (qua đêm) hoặc đậy cốc bằng kính đồng hồ rồi đun trên bếp cách thủy 10 phút để dung dịch đến nhiệt độ 60 – 70°C (không đun sôi).

Dùng pipet thêm vào cốc 5 ml dung dịch gelatin 1%, khuấy đều bằng đũa thủy tinh khi thêm từng giọt gelatin vào dung dịch trên, giữ nhiệt độ dung dịch khoảng 70°C để gelatin phản ứng hoàn toàn với axit silicic.

Thêm vào cốc 20 ml nước cất nóng để giảm độ axit của dung dịch trước khi lọc.

Lọc dung dịch qua giấy lọc không tàn băng trắng, hứng dịch lọc vào bình định mức 250ml. Dùng nước cất nóng rửa kết tủa đến hết phản ứng của Fe^{3+}. Nếu nung kết tủa SiO_2 trong chén platin thì phải rửa hết vết Cl^-. Định mức đến 250ml, dung dịch dùng để xác định Fe^{3+}, Al^{3+}, Ca^{2+}, Mg^{2+}...

Dùng giấy lọc gói kĩ kết tủa lại rồi cho vào chén platin đã biết khối lượng a_1(g).

Đặt chén vào lò nung nguội, nâng dần nhiệt độ. Khi hết khói bay ra, có thể tăng nhanh nhiệt độ lò nung và nung tại nhiệt độ 1000 – 1200°C đến khối lượng không đổi (thường giữ ở nhiệt độ này trong thời gian 30 phút đến 1 giờ là được)

Lấy chén ra để nguội bớt rồi cho vào bình hút ẩm 15 – 20 phút. Dùng cân phân tích cân khối lượng a_2(g) (tốt nhất là sau khi cân xong lại cho vào lò nung nung một lần nữa rồi lại cân. Sai số giữa hai lần cân không vượt quá 0,3mg là được).

Tính kết quả :

$$SiO_2\ (\%) = \frac{a_2 - a_1}{\text{khối lượng đất khô kiệt}} \times 100$$

Hóa chất : Gelatin 1% : Hòa tan 1g gelatin đã nghiền nhỏ trong 100ml nước cất ở 70°C trên bếp cách thủy đến khi tan hoàn toàn. Không để nhiệt độ quá cao vì trên 70°C gelatin bắt đầu tụ keo. Dung dịch pha xong phải dùng ngay.

Cần kiểm tra hàm lượng canxi trong dung dịch : lấy 1 ml dung dịch gelatin cho vào bình tam giác 100 ml. Pha loãng bằng nước đến thể tích 10 ml, tiến hành chuẩn độ bằng trilon B 0,01M với chỉ thị fluorexon. Lượng CaO trong gelatin lấy xác định là :

CaO = số ml trilon B . T_{CaO}

HCl 1 : 1.

KCNS 20%.

2.2. Xác định silic trong dung dịch bằng phương pháp so màu "xanh molipden".

Trong môi trường axit có dư thuốc thử axit silicic tạo với ion molipđat thành một hợp chất phức dị ta có màu vàng, có thành phần là $H_4[Si(Mo_{12}O_{40})]$. Khi có mặt chất khử, hợp chất phức dị đa nói trên sẽ có màu xanh rõ. Tùy thuộc vào chất khử

sử dụng, nồng độ của nó và một số yếu tố khác mà màu xanh được tạo thành có các thành phần khác nhau.

Có thể sử dụng các muối vô cơ như thiếc (II) oxalat, thiếc (II) clorua, muối Mohr, natri hidro sunfit, natri sunfit cũng như các thuốc thử hữu cơ như axit ascobic, metol, hidrazin–sunfat ... làm chất khử.

Thuận lợi nhất là nên dùng axit ascobic, khi đó sẽ tạo thành sản phẩm khử có màu bền vững, không phụ thuộc vào lượng thuốc thử thêm vào. Sử dụng axit ascobic khi có mặt axit limonic (hay axit oxalic) không những làm nhanh quá trình xác định silic mà kết quả nhận được không phụ thuộc vào sự có mặt của photpho, asen và lượng dư thuốc thử trong dung dịch.

Phức màu xanh giữa silic và molipđen có thể được chiết bằng dung môi hữu cơ. Vì vậy có thể dùng phương pháp chiết trắc quang để xác định silic trong nước, trong thực vật và trong phân bón.

Photpho (V) và Asen (V) cũng tạo thành hợp chất dị đa nhưng độ bền của phức các ion này và của silic khác nhau, tùy thuộc vào môi trường axit và sự có mặt của các axit hữu cơ. Khi hàm lượng Fe (III) cao cũng cản trở phép xác định silic, nếu hàm lượng Fe^{3+} không cao lắm có thể dùng complexon (III) để che, hoặc khử Fe (III) xuống Fe (II).

Khi hàm lượng Fe (III) lớn hơn 10mg, và hàm lượng P_2O_5 lớn hơn 0,5mg ảnh hưởng đến kết quả phân tích. Trong trường hợp này phải tách silic ra.

Trình tự phân tích :

Cân 0,06 – 0,02g đất đã nghiền nhỏ đến trạng thái bụi và tiến hành nung chảy trong chén platin với hỗn hợp gồm 0,5g Na_2CO_3 và 0,25g $N_2B_4O_7.10H_2O$. Hòa tan mẫu sau khi nung chảy đã để nguội trong 75ml H_2O đã cho thêm 3,5ml HCl đặc. Sau khi hòa tan xong chuyển vào bình định mức 250ml, thêm nước đến vạch mức, lắc đều.

Lấy 3 – 5ml dung dịch trong bình định mức nói trên, cho vào bình định mức dung tích 100ml, thêm nước cất đến khoảng 70 – 80 ml. Thêm 2ml HCl 4N, 5ml dung dịch amonimolipđat 5%, giữ yên 10 – 15 phút để tạo phức dị đa màu vàng. Sau đó thêm vào 5ml dung dịch chất khử có chứa axit limonic. Thêm nước cất đến vạch mức, lắc đều, giữ yên 20 phút để tạo màu xanh bền. Đo màu tại bước sóng 800nm.

Thuốc thử :

- Dung dịch $(NH_4)_6Mo_7O_{24}.4H_2O$ 5% trong H_2SO_4 0,7N.
- Chất khử (pha trước khi dùng) dung dịch axit limonic 5% và axit ascobic 1%.
- Dung dịch chuẩn : 50ppm silic.

Đun tinh thể thạch anh trong HCl đặc khoảng 1 giờ, rửa sạch bằng nước cất, sau đó sấy khô. Dùng cối mã não nghiền nhỏ thành bột, chuyển bột thạch anh sang chén rồi nung cho đến khi đỏ, để nguội.

Nung 0,1080 g bột thạch anh nói trên với NaOH trong chén nung làm bằng niken, sau đó hòa tan bằng 50ml nước, chuyển vào bình định mức 1 lít, thêm 400ml nước có 29ml HCl 6N, định mức bằng nước đến vạch mức.

Dùng pipet lấy 0 ; 1 ; 2 ; 3 ; 4 ; 5 ; 6 ; 7 ; 8 ml dung dịch chuẩn nói trên cho vào bình định mức 100ml rồi dùng phương pháp hiện màu như trong dung dịch phân tích. Các dung dịch trên có nồng độ tương ứng là 0 ; 0,5 ; 1,0 ; 1,5 ; 2,0 ; 2,5 ; 3,0 ; 3,5 và 4 ppm Si.

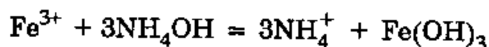
3. Xác định R_2O_3 tổng số

Các oxit hóa trị 3(Al_2O_3 và Fe_2O_3) trong đất có hàm lượng tương đối lớn chỉ sau SiO_2 vì các aluminosilicat, ferosilicat và aluminoferisilicat có nhiều trong vỏ Trái Đất.

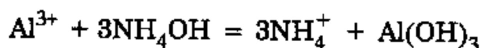
Xác định R_2O_3 tổng số trong đất cho phép xác định sự phân bố của chúng trong phẫu diện đất và giải thích chiều hướng của quá trình tạo thành đất. Các oxit hóa trị 3 có thể tách khỏi dung dịch bằng 3 phương pháp sau : phương pháp amoniac, phương pháp axetat và phương pháp urotropin. Phương pháp amoniac thường được sử dụng trong các đất không cacbonat nghĩa là khi hàm lượng R_2O_3 lớn hơn hàm lượng canxi và magie. Trong đất cacbonat cũng như trong các chất tạo thành của mangan và sắt có hàm lượng MnO cao hơn 1%. Để tách sắt và nhôm khỏi dung dịch, người ta dùng phương pháp axetat.

Phương pháp amoniac xác định tổng số oxit hóa trị 3

Ion Fe^{3+} và Al^{3+} được kết tủa bằng amoniac dưới dạng hidroxit sắt và hidroxit nhôm :



$$Fe^{3+} + 3NH_4OH = 3NH_4^+ + Fe(OH)_3$$



$$Al^{3+} + 3NH_4OH = 3NH_4^+ + Al(OH)_3$$

Khi trung hòa dung dịch lọc đã tách axit silicic bằng dung dịch amoniac, thì titan hidroxit được tách ra trước (pH = 1- 1,5), sau đó là sắt hidroxit (pH = 2- 5) và cuối cùng là nhôm hidroxit (pH = 4,5 - 6,5).

Trình tự phân tích :

Lắc đều bình định mức đựng dung dịch lọc nói trên, dùng pipet hút 50 - 100ml dung dịch cho vào cốc 200 - 250ml.

Đun nóng dung dịch đến gần sôi (đến khi có bọt khí đầu tiên), hạ thấp nhiệt độ, thêm vào từng giọt dung dịch NH_4OH 25%, lắc đều cốc mỗi khi thêm NH_4OH (hoặc dùng đũa thủy tinh khuấy đều). Khi dung dịch bắt đầu đục, thêm vào cốc 2 giọt chỉ thị metyl đỏ rồi tiếp tục trung hòa bằng dung dịch NH_4OH 10% , luôn luôn khuấy đều dung dịch. Quá trình trung hòa kết thúc khi chỉ thị chuyển từ màu đỏ sang màu vàng.

Nếu màu nâu của sắt hidroxit cản trở sự quan sát đổi màu của chỉ thị thì giữ yên dung dịch một chút rồi quan sát sự đổi màu ở lớp dung dịch trên kết tủa.

Màu của chỉ thị metyl đỏ thay đổi trong khoảng pH = 4,4 - 6,2. Khoảng này gần với giá trị pH để tách hoàn toàn sắt hidroxit và nhôm hidroxit khỏi dung dịch.

Lại thêm vào 2 - 3 giọt dung dịch NH_4OH 10% và lấy tay quạt nhẹ không khí ở miệng cốc, nếu thoáng thấy mùi NH_3 (chứng tỏ lượng NH_4OH dư không nhiều) thì ngừng.

Đun dung dịch cùng với kết tủa đến sôi và giữ sôi 2 phút. Lọc ngay dung dịch nóng qua giấy lọc không tàn băng đỏ đường kính 9 - 11 cm. Dung dịch lọc được giữ lại để xác định các nguyên tố khác.

Dùng NH_4NO_3 1% để rửa kết tủa 2 - 3 lần. Cho kết tủa cùng giấy lọc vào trong cốc cũ rồi thêm vào đấy 5 - 10 ml HCl 1 : 1. Khuấy đều để hòa tan hết kết tủa.

Thêm vào cốc 50 - 100 ml nước cất, dùng NH_4OH 25% và NH_4OH 10% kết tủa lại hidroxit sắt, nhôm như đã làm ở trên. Dùng NH_4NO_3 1% rửa kết tủa cho đến khi hết phản ứng của Cl^- (axit hóa dung dịch chảy ra bằng HNO_3, dùng $AgNO_3$ để kiểm tra Cl^-).

Gói kết tủa, cho kết tủa vào chén platin đã biết trước khối lượng a_1, sấy khô, tro hóa và sau đó nung trong lò nung ở nhiệt độ 900 - 1100°C khoảng 30 phút. Lấy ra để nguội trong bình hút ẩm rồi cân khối lượng không đổi a_2.

Tính kết quả :

$$R_2O_3\ (\%) = \frac{a_2 - a_1}{W} \cdot 100$$

W : khối lượng đất tương đương với thể tích dung dịch lọc lấy để phân tích.

Hóa chất :

NH_4OH đặc 25%.

NH_4OH 10%.

NH_4NO_3 1% : Hòa tan 1g NH_4NO_3 tinh khiết trong 100ml nước cất, thêm vài giọt NH_4OH đặc đến khi dung dịch có phản ứng kiềm yếu theo chỉ thị metyl đỏ.

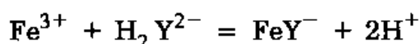
4. Xác định tổng số Fe_2O_3 trong đất

Sắt là nguyên tố khá phổ biến trong đất. Sắt tham gia trong thành phần của các khoáng khác nhau. Trong vỏ Trái đất, thường gặp sắt dưới dạng các oxit : hematit Fe_2O_3 ; hidro hematit $2Fe_2O_3.H_2O$, hidro hetit $Fe_2O_3.2H_2O$... Nhìn vào màu sắc của đất có thể dự đoán được những đất nào giàu sắt qua màu đỏ nâu của đất.

Đất nhiều sắt thì khả năng giữ ẩm, giữ màu, cố định lân càng lớn vì sắt tập trung phần lớn ở các cấp hạt nhỏ.

Hiện nay có nhiều phương pháp để xác định sắt : phương pháp khối lượng, phương pháp thể tích, phương pháp so màu. Tuy nhiên dùng phổ biến hiện nay là phương pháp chuẩn độ sắt bằng trilon B và phương pháp so màu.

Phương pháp complexon. Ion Fe^{3+} phản ứng với trilon B tại pH = 1 - 1,5, tạo thành phức chất ít phân li :

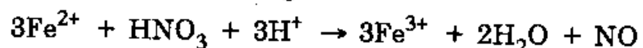


$$Fe^{3+} + H_2Y^{2-} = FeY^- + 2H^+$$

Phản ứng xảy ra đúng như tính toán tại nhiệt độ 50 - 55°C. Dùng axit sunfosalixilic làm chỉ thị cho quá trình chuẩn độ. Trong quá trình chuẩn độ, màu tím đỏ của

phức giữa sắt và axit sunfosalixilic sẽ mất, dung dịch sẽ có màu vàng nhạt của complexonat sắt.

Trình tự phân tích : Dùng pipet hút 25 ml dung dịch lọc sau khi đã tách SiO_2, cho vào bình tam giác 250 ml. Thêm vào đấy 7 giọt HNO_3 đặc và đun dung dịch đến sôi để oxi hóa Fe^{2+} tạo thành do Fe^{3+} bị khử một phần trong quá trình nung nóng. Sự oxi hóa xảy ra theo phản ứng :



$$3Fe^{2+} + HNO_3 + 3H^+ \rightarrow 3Fe^{3+} + 2H_2O + NO$$

Trung hòa dung dịch bằng NH_4OH 10% đến khi dung dịch xuất hiện đục thì thêm vào từng giọt NH_4OH, vừa thêm vừa lắc đều bình đến khi đục không biến mất.

Thêm 10ml HCl 1,0N rồi thêm nước đến thể tích 100ml. Sau khi phá hủy đục của các oxit hóa trị 3, pH của dung dịch hạ xuống đến giá trị pH = 1 - 1,5. Đun nóng dung dịch đến 50 - 55°C, thêm vào 1 ml dung dịch axit sunfosalixilic 10% (hoặc 0,1g tinh thể) và tiến hành chuẩn độ nóng từ từ bằng dung dịch trilon B đến khi màu của dung dịch chuyển từ tím đỏ sang vàng chanh thì ngừng. Màu của dung dịch chuyển rất rõ khi hàm lượng Fe_2O_3 lớn hơn 1mg trong 100ml dung dịch. Nếu hàm lượng Fe_2O_3 quá lớn thì ở điểm tương đương dung dịch có màu vàng - xanh đậm. Nếu hàm lượng Fe_2O_3 nhỏ, dung dịch sẽ có màu vàng sáng (hầu như không màu). Để xác định điểm tương đương cần so sánh màu của dung dịch chuẩn độ với màu dung dịch trước khi chuẩn độ.

Có thể dùng dung dịch sau khi chuẩn độ sắt để xác định Al_2O_3.

Tính kết quả :

$$Fe_2O_3\ (\%) = \frac{V.T_{Fe_2O_3} . 100}{a}$$

V : số mililit trilon B đã dùng để chuẩn độ.

$T_{Fe_2O_3}$: độ chuẩn của trilon B đối với Fe_2O_3 (dung dịch trilon B 0,025M, 0,01M giá trị $T_{Fe_2O_3}$ tương ứng là 0,001998g ; 0,0007988g).

a : số gam đất tương ứng với thể tích lấy để xác định.

Hóa chất :

HNO_3 đặc (d = 1,4).

NH_4OH 10%.

HCl 1N.

Axit sunfosalixilic 10%.

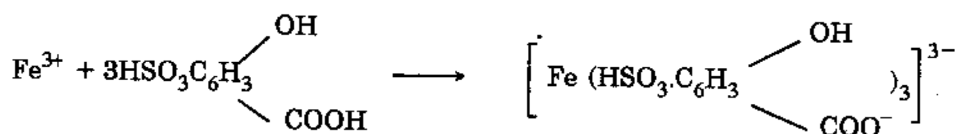
Trilon B 0,01M : 3,722g trilon B hòa tan, pha thành 1 lít.

- *Phương pháp so màu.* Để xác định hàm lượng tổng số sắt bằng phương pháp so màu, người ta sử dụng phản ứng tạo phức màu của sắt với axit sunfosalixilic.

Axit sunfosalixilic tạo với sắt các ion phức có màu khác nhau : tại pH = 2 - 2,5 $[Fe\ (Sal)\ ]^+$ có màu đỏ, tại pH = 4 - 8 $[Fe\ (Sal)_2]^-$ có màu nâu và tại pH = 8 - 11,5 $[Fe\ (Sal)]^{3-}$ có màu vàng. Trong môi trường axit những ion phức nêu trên chỉ

được tạo thành với oxit sắt (III) còn trong môi trường kiềm thì cả với oxit sắt (II) và oxit sắt (III) vì trong những điều kiện như vậy Fe^{2+} dễ dàng được oxi hóa thành Fe^{3+}.

Phương pháp sunfosalixilic trong môi trường amoniac cho phép xác định tổng lượng các ion Fe^{2+} và Fe^{3+}, nghĩa là xác định hàm lượng tổng số của sắt. Phương pháp dựa trên sự tạo thành ion nội phức sắt sunfosalixilat.



Màu vàng của ion phức này rất bền, có thể không đổi màu trong một tháng hoặc hơn nữa.

Phương pháp này có thể xác định cường độ màu bằng mắt hoặc bằng máy so màu quang điện. Hệ số hấp thụ phân tử của dung dịch màu tại $\lambda = 430$ nm là $\varepsilon = 6000$. Định luật Bia được tuân theo đến nồng độ 4 mg Fe^{3+}/lít.

+ *Trình tự phân tích* : Lắc đều dung dịch lọc sau khi đã tách axit silicic, dùng pipet lấy 10 – 25ml dung dịch này cho vào bình định mức 100 ml.

Thêm vào bình 5 – 10ml dung dịch axit sunfosalixilic 25%. Lượng axit thêm vào tùy thuộc không những hàm lượng sắt mà còn tùy thuộc cả hàm lượng nhôm, canxi, magie bởi vì axit sunfosalixilic sẽ tạo với những ion này thành các phức không màu. Vì vậy axit này cần thêm vào với lượng sao cho sau khi trung hòa axit bằng amoniac sẽ không có đục trong dung dịch do sự tạo thành hidroxit của các ion kim loại đã nêu. Thêm vào bình dung dịch amoniac 25% đến khi hơi có mùi amoniac và dung dịch chuyển từ màu tím đỏ sang màu vàng. Thêm tiếp 1ml amoiac 25% nữa.

Nếu màu của dung dịch là màu nâu hoặc nâu hung thì cần làm lại thí nghiệm. Khi đó cần cho vào dung dịch mẫu 0,5 – 1g hidroxylamin clorua hay hidrazin để ngăn cản mangan tách ra dưới dạng $MnO(OH)_2$ kết tủa. Kết tủa này sẽ xuất hiện sau khi hình thành dung dịch màu một thời gian vì thế sau khi thêm tất cả các thuốc thử 5 – 10 phút, nên đo màu ngay.

Thêm nước cất vào bình định mức đến vạch mức, lắc đều rồi tiến hành đo màu như các phương pháp khác.

+ *Hóa chất* :

Dung dịch axit sunfosalixilic 25%. Dung dịch không bền vì vậy chỉ nên chuẩn bị 100ml. Dung dịch được giữ trong lọ màu nút nhám.

NH_4OH 25% không có CO_2.

Dung dịch chuẩn Fe_2O_3 : Cân 0,6040g $(NH_4)_2SO_4.\ Fe_2(SO_4).24\ H_2O$ tinh khiết hòa tan trong 1 lít H_2SO_4 5% (không có Fe^{3+}). Thêm 2 giọt HNO_3 đặc (d = 1,4) để oxi hóa sắt (II), lắc đều. Dung dịch này chứa 0,1mg Fe_2O_3 trong 1 ml.

Nồng độ của dung dịch này được kiểm tra lại bằng phương pháp khối lượng. Lấy 3 mẫu, mỗi mẫu 100ml, kết tủa Fe^{3+} bằng amoniac sau đó lọc kết tủa. Rửa kết tủa trên giấy lọc bằng NH_4NO_3 1% có phản ứng kiềm rồi nung ở 850 – 900°C đến khối lượng không đổi.

+ *Thang chuẩn* : Lấy 5 bình định mức 100 ml, thêm vào mỗi bình dung dịch Fe_2O_3 với hàm lượng 0,2 ; 0,4 ; 0,6 ; 0,8 ; 1,0 mg Fe_2O_3/100 ml.

Thêm 5ml axit sunfosalixilic 5%, sau đó thêm vào từng giọt NH_4OH 25% đến khi có mùi nhẹ và dung dịch có màu vàng không đổi, thêm tiếp 1 ml NH_4OH 25% nữa, thêm nước cất đến vạch mức.

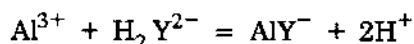
5. Xác định tổng số Al_2O_3 trong đất

Hàm lượng Al_2O_3 tổng số trong đất dao động trong khoảng 6 – 15%. Theo chiều sâu của phẫu diện, hàm lượng Al_2O_3 tăng dần. Tuy nhiên trong một số loại đất hàm lượng oxit nhôm ít biến đổi theo phẫu diện.

Giống như sắt, các cấp hạt càng nhỏ càng chứa nhiều nhôm. Đất giàu nhôm là loại đất khó cày bừa, bí nhưng khả năng giữ nước, giữ màu cao.

Các phương pháp xác định nhôm :

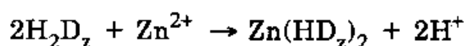
a) Phương pháp complexon : Để xác định nhôm bằng phương pháp complexon hiện nay người ta dùng phổ biến phương pháp chuẩn độ gián tiếp. Cho một lượng dư trilon B vào dung dịch chứa nhôm, trong môi trường axit mạnh nhôm sẽ phản ứng với complexon III tạo thành phức không màu ;



$$Al^{3+} + H_2Y^{2-} = AlY^- + 2H^+$$

Chuẩn lại lượng dư trilon B bằng một ion kim loại nào đó với chất chỉ thị thích hợp từ đó tính lượng trilon B đã phản ứng với nhôm.

b) Phương pháp Vannien. Thêm một lượng dư trilon B vào dung dịch chứa nhôm, đun nóng dung dịch để đẩy nhanh tốc độ phản ứng tạo phức và xác định lượng trilon B dư bằng cách chuẩn độ với dung dịch muối kẽm ở pH = 4,5 – 4,8 khi có mặt đithizon làm chất chỉ thị. Trong khoảng pH này, khi dư Zn^{2+} , Zn^{2+} sẽ phản ứng với đithizon, màu của dung dịch sẽ chuyển từ màu xanh của đithizon sang màu đỏ của kẽm đithizonat.



$$2H_2D_z + Zn^{2+} \rightarrow Zn(HD_z)_2 + 2H^+$$

– *Trình tự phân tích :* Thêm 0,5 ml HCl đặc vào cốc đựng dung dịch sau khi đã chuẩn độ sắt và đun sôi để chuyển nhôm hoàn toàn sang trạng thái ion.

Thêm vào cốc 20 ml dung dịch trilon B 0,05N, lắc đều, dùng NH_4OH 10% để trung hòa dung dịch theo chỉ thị công gô đỏ (xanh sang đỏ), sau đó thêm 10ml dung dịch đệm có pH = 4,5 và lại đun dung dịch đến sôi. Làm lạnh dung dịch đến nhiệt độ phòng. Rót vào cốc 20 ml rượu etylic hay axeton, 2ml dung dịch đithizon mới pha, lắc đều rồi chuẩn độ lượng trilon B dư bằng dung dịch $ZnSO_4$ 0,05N đến khi dung dịch chuyển từ màu xanh lá cây sang màu đỏ hoa đào.

– *Tính kết quả* :

$$Al_2O_3\ (\%) = \frac{(V_1 - V_2) \cdot T_{Al_2O_3} \cdot 100}{a}$$

V_1 = 20ml

V_2 : số ml $ZnSO_4$ dùng để chuẩn độ lượng trilon B dư.

a : số gam đất tương ứng với thể tích lấy để xác định.

$T_{Al_2O_3}$: với trilon B 0,05N, giá trị này bằng 0,001274g.

– *Hóa chất* :

Giấy chỉ thị công gô đỏ.

Dung dịch đệm pH = 4,5 : hòa tan 77g amôni axetat, thêm vào đó 60ml axit axetic băng rồi dùng nước cất định mức đến 1 lít.

Dung dịch đithizon 0,025% : Cân 25mg đithizon hòa tan trong 100 ml rượu etylic. Dung dịch chuẩn bị trước khi dùng và giữ không quá 2 ngày.

Dung dịch trilon B 0,05N : 9,305g trilon B hòa tan và định mức đến 1 lít.

Dung dịch $ZnSO_4$ 0,05N : cân 7,19g $ZnSO_4 . 7H_2O$ hòa tan vào nước, có thể thêm vào đó 5ml HCl 2N, thêm nước cất đến 1 lít. Nếu qua 1 ngày còn đục thì phải lọc.

Chuẩn lại dung dịch này bằng trilon B tại pH = 10, chỉ thị là cromogen đen.

c) Phương pháp Sochevanova. Cho 20ml trilon B 0,05N vào dung dịch đã chuẩn độ sắt, đun sôi dung dịch 1 – 2 phút, sau đó thêm 1 – 2 giọt chỉ thị metyl da cam và trung hòa bằng NH_4OH 1 : 1 đến khi dung dịch chuyển từ màu đỏ sang màu vàng.

Thêm vào 5ml dung dịch đệm axetat, pH của dung dịch lúc này nằm trong khoảng 4,5 – 5,0.

Dung dịch được làm lạnh đến 20 – 30°C, thêm tiếp vào 30 – 50 mg chỉ thị xilen da cam, dung dịch có màu vàng. Chuẩn lượng dư trilon B bằng dung dịch $ZnSO_4$ hay $ZnCl_2$ 0,05N cho đến khi dung dịch chuyển sang màu đỏ.

– *Tính kết quả* : % Al_2O_3 được tính tương tự như phương pháp Vannien.

– *Hóa chất* :

Đệm axetat pH = 5,0 : hòa tan 300g natri axetat trong 1 lít nước cất, axit hóa bằng HCl đặc đến pH = 5 theo giấy chỉ thị vạn năng.

Chỉ thị xilen da cam : hỗn hợp chỉ thị ở dạng khô với KCl theo tỉ lệ 1 : 100.

6. Xác định photpho tổng số trong đất

Photpho có tác dụng rất quan trọng trong dinh dưỡng của thực vật, đặc biệt là đối với sự phát triển của rễ và hạt. Hàm lượng photpho trong đất dao động trong khoảng 0,10 – 0,19% (P_2O_5). Trong tất cả các loại đất, hàm lượng photpho ở các tầng dưới nhỏ hơn đáng kể so với tầng trên.

a) Các phương pháp phá hủy mẫu. Để phá hủy mẫu xác định photpho trong đất người ta có thể dùng các phương pháp sau đây :

Phương pháp sử dụng hỗn hợp axit và chất oxi hóa mạnh.

Phương pháp nung chảy kiềm với hỗn hợp Na_2CO_3 và K_2CO_3 hoặc với từng chất riêng biệt.

– *Phá hủy mẫu bằng hỗn hợp* H_2SO_4 *đặc và* $HClO_4$. Dùng cân phân tích cân 1g đất đã rây qua rây 1mm, cho đất vào bình Kenđan dung tích 50ml. Thêm vào bình một ít nước cất cho mẫu đất hơi ẩm rồi cho vào 8ml H_2SO_4 đặc, lắc đều, cho vào 10 giọt $HClO_4$ 70%. Đậy bình bằng một chiếc phễu nhỏ. Đốt từ từ cho nhiệt độ

tăng dần. Khi dung dịch bắt đầu chuyển thành màu trắng thì tiếp tục đốt thêm 20 phút nữa. Toàn bộ thời gian phá hủy mẫu hết khoảng 30 – 40 phút. Để nguội, dùng nước cất rửa và chuyển dung dịch vào bình định mức 100ml, định mức đến 100ml.

– *Phá hủy mẫu bằng phương pháp nung chảy kiềm* : Xem phần phân tích tổng thành phần khoáng.

b) Phương pháp định lượng. Có thể sử dụng phương pháp khối lượng, phương pháp thể tích và phương pháp so màu để xác định photpho tổng số trong đất. Phổ biến hiện nay là dùng phương pháp so màu.

Xác định photpho theo phương pháp so màu "xanh molipđen"

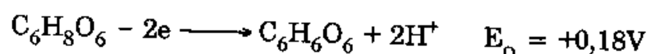
Phương pháp dựa trên sự khử Mo^{VI} của axit dị đa photpho molipđic để tạo thành "molipđen xanh" có màu xanh nước biển hoặc xanh da trời tùy thuộc vào hàm lượng photpho. Theo Đơnhigiơ đây là hợp chất của molipđen hóa trị 4 và hóa trị 6 với axit photphoric $[(MoO_2.4MoO_3)_2H_3PO_4.4H_2O]$. Có giả thiết cho rằng "xanh molipđen" là dung dịch keo của molipđen hóa trị 5 và hóa trị 6.

Quá trình khử Mo^{VI} xuống Mo ở các hóa trị thấp hơn tiến hành trong môi trường axit. Khi môi trường chưa đủ axit thì ngay cả molipđen tự do cũng bị khử thành màu "xanh molipđen". Trong dung dịch axit mạnh, axit dị đa photphomolipđic không bền, trong môi trường kiềm axit dị đa hoàn toàn bị phá hủy tạo nên muối của axit photphoric và molipđic. Vì vậy độ axit của môi trường nghĩa là lượng axit trong dung dịch cần phải là tối ưu để tạo thành màu "xanh molipđen" đặc trưng của axit dị đa photphomolipđic.

Sự khử molipđen có thể tiến hành bằng thiếc (II) clorua, axit ascobic, hidrazin sunfat và các chất khử khác. Các chất khử khác nhau sẽ cho các sản phẩm khử axit dị đa khác nhau và cũng cho độ nhạy của phương pháp khác nhau. Vì vậy thành phần của phức màu nhận được tùy thuộc vào độ axit của môi trường, nồng độ của amôni molipđat và tính chất của chất khử.

Khử molipđen của axit dị đa photphomolipđic bằng axit ascobic : Axit ascobic $C_6H_8O_6$ có tính khử, lần đầu tiên (1936) được Ammon và Hinsberg dùng để khử molipđen.

Sự khử molipđen và các kim loại khác (Fe^{3+}, Cu^{2+}) bằng axit ascobic dựa trên khả năng axit này cho electron theo sơ đồ :



$$C_6H_8O_6 - 2e \longrightarrow C_6H_6O_6 + 2H^+ \qquad E_o = +0,18V$$

a. ascobic a. đêhiđro ascobic

Axit đêhiđro ascobic cũng là chất khử nhưng yếu hơn axit ascobic. Thế oxi hóa – khử của hệ phụ thuộc vào độ axit của môi trường : tại pH = 7 thế này bằng + 0,18V ; còn tại pH = 2 thế này bằng +0,28V.

Người ta đã xác định được rằng, dung dịch nước của axit ascobic khi có mặt axit paratactaric $C_4H_6O_6.H_2O$ sẽ khử molipđen ở trạng thái phức không động chạm đến amoni molipđat dư. Merphi và Raili (1962) đã cho rằng trong dung dịch kali antimoan tactrat màu xanh được tạo thành mà không cần phải đun nóng. Màu bền với thời

gian và tỉ lệ thuận với nồng độ photpho trong dung dịch. Hiện nay hay sử dụng phương pháp của Vanataba và Olsen (1965) cải tiến để xác định P trong đất.

– *Trình tự phân tích :* Lấy 5ml dung dịch sau khi phá hủy mẫu cho vào bình định mức 100ml, pha loãng bằng nước cất đến 50ml. Trung hòa lượng axit dư bằng NH_4OH 10% (thêm vào từng giọt đến khi xuất hiện đục do có tạo thành các hidroxit) hoặc tiến hành trung hòa theo α hay β – đinitrophenol đến khi chỉ thị có màu vàng. Dùng H_2SO_4 10% làm mất màu vàng của chỉ thị hoặc làm mất đục của dung dịch. Thêm tiếp vào 4ml thuốc thử B, rồi thêm nước đến vạch mức, lắc đều, giữ yên 10 phút để tạo màu hoàn toàn (hoặc có thể đun sôi 10 phút để đẩy nhanh quá trình tạo màu), khi có mặt P dung dịch có màu xanh da trời với sắc tím. Màu bền qua 24 giờ. Hệ số hấp thụ phân tử của dung dịch phức màu $\varepsilon = 30000$ tại bước sóng $\lambda = 725$nm.

– *Hóa chất :*

Thuốc thử A : Chuẩn bị dung dịch H_2SO_4 5N : Rót 140ml H_2SO_4 đặc (d = 1,84) vào bình thủy tinh chịu nhiệt đã có sẵn nước cất. Sau khi dung dịch nguội, thêm nước cất đến 1 lít và lắc đều dung dịch.

Hòa tan 12g amoni molipđat đã kết tinh trong 250 ml nước cất.

Hòa tan 0,2908g muối $K(SbO)C_4H_4O_6.0,5H_2O$ trong 100ml nước cất.

Rót vào cả hai dung dịch này vào 100ml H_2SO_4 5N, khuấy đều rồi dùng nước cất đưa thể tích dung dịch đến 2 lít. Dung dịch đựng trong lọ thủy tinh màu giữ ở chỗ tối và lạnh.

Thuốc thử B : Hòa tan 1,056g axit ascobic trong 200ml thuốc thử A. Thuốc thử này không bền vì vậy cần chuẩn bị thuốc thử hàng ngày.

Dung dịch chuẩn :

Dung dịch chuẩn gốc P_2O_5 : Cân 0,191g KH_2PO_4 tinh khiết, hòa tan bằng nước cất rồi định mức đến 1 lít. Dung dịch có 0,1mg P_2O_5 trong 1ml, đựng trong bình kín, giữ ở chỗ tối. Để loại trừ ảnh hưởng của các vi sinh vật, trước khi định mức lên 1 lít người ta thêm vào dung dịch này 10 ml H_2SO_4 1N, 6 giọt $KMnO_4$ 0,1N hoặc 1 ml toluen.

Dãy dung dịch chuẩn : Pha loãng dung dịch chuẩn gốc 10 lần ta được dung dịch chứa 0,01 mg P_2O_5/1 ml.

Lấy 5 bình định mức 100ml lần lượt cho vào 2, 4, 6, 8, 10 ml dung dịch 0,01 mg P_2O_5/1 ml. Tiến hành hiện màu như đối với dung dịch thí nghiệm.

– *Thang đánh giá :*

	P_2O_5 (%)
Đất nghèo P	< 0,06
Trung bình	0,06 – 0,10
Giàu P	0,10

7. Xác định tổng số MnO trong đất

Hàm lượng tổng số MnO trong đất dao động trong giới hạn 0,06 – 0,27%. Trong đất mangan thường gặp dưới dạng :

– Dạng muối hòa tan như $MnCl_2$, $MnSO_4$, $Mn(NO_3)_2$, $Mn(HCO_3)_2$, $Mn(H_2PO_4)_2$.

– Dạng hấp phụ trao đổi Mn^{2+}.

– Dạng không tan trong nước : Mn_3O_4, Mn_2O_3, MnO_2, $MnCO_3$, $Mn_3(PO_4)_2$.

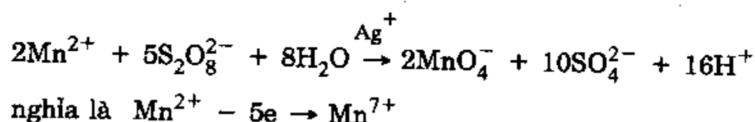
– Dạng tham gia vào trong các hợp chất hữu cơ, trong các tinh thể khoáng.

Mangan được oxi hóa trong các điều kiện pH khác nhau :

Chất oxi hóa	Br_2, H_2O_2 môi trường kiềm	$(NH_4)_2S_2O_8$ môi trường trung tính	$(NH_4)_2S_2O_8$, KIO_4, $NaBiO_3$ môi trường axit
Sản phẩm phản ứng	$MnO_2.H_2O$	$MnO_2.H_2O$	MnO_4^-

Vì hàm lượng mangan trong đất thường nhỏ hơn 1%, người ta thường dùng phương pháp so màu để xác định nó. Thường hay dùng nhất là phương pháp persunfat hay periodat. Hai phương pháp này đều dựa trên sự oxi hóa Mn^{2+} đến mangan hóa trị 7 trong môi trường axit.

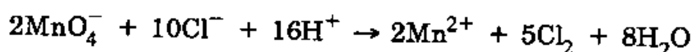
Xác định mangan theo phương pháp persunfat. Amoni persunfat hay kali persunfat sẽ oxi hóa Mn^{2+} đến MnO_4^- trong môi trường axit khi có mặt ion Ag^+ làm xúc tác :



$$2Mn^{2+} + 5S_2O_8^{2-} + 8H_2O \xrightarrow{Ag^+} 2MnO_4^- + 10SO_4^{2-} + 16H^+$$

nghĩa là $Mn^{2+} - 5e \rightarrow Mn^{7+}$

Sự tạo thành MnO_4^- chỉ xảy ra trong môi trường HNO_3 hoặc H_2SO_4, không xảy ra trong môi trường HCl vì khi đó xảy ra phản ứng :



$$2MnO_4^- + 10Cl^- + 16H^+ \rightarrow 2Mn^{2+} + 5Cl_2 + 8H_2O$$

Khi oxi hóa Mn^{2+} cần có mặt H_3PO_4 để ngăn cản sự tạo thành MnO_2 và để liên kết với sắt dưới dạng ion phức không màu $[Fe(PO_4)_2]^{3-}$.

Hệ số hấp thụ phân tử của dung dịch màu $\varepsilon = 2300$ tại bước sóng $\lambda = 525$nm. Định luật Bia được tuân theo khi nồng độ Mn dưới 200mg/lít.

Trình tự phân tích : Lấy 25ml dịch lọc sau khi tách SiO_2 cho vào bát sứ rồi chưng khô trên bếp cách thủy để cho HCl bay hơi hết. Dùng một ống mao quản để thấm ướt phần khô trong chén bằng dung dịch HNO_3 đặc. Đặt bát sứ lên trên bếp cách thủy và lại chưng khô. Quá trình xử lí này lặp đi lặp lại ít nhất là 3 lần để đảm bảo đuổi hết Cl^-. Việc xử lí phần khô trong bát sứ bằng HNO_3 không những để tách Cl^- mà còn oxi hóa những chất khử như Fe^{2+} hay một chất nào khác cản trở sự oxi hóa mangan.

Sau khi xử lí phần khô bằng HNO_3, thêm vào trong bát sứ 25ml dung dịch H_2SO_4 5%, 1ml H_3PO_4 để liên kết sắt ba dưới dạng phức và để ổn định màu MnO_4^-, thêm tiếp 2ml dung dịch $AgNO_3$ 1%. Đậy bát sứ bằng kính đồng hồ và giữ trên bếp cách thủy sôi 30 phút để muối tan hoàn toàn và để kết tủa những vết Cl^- nếu chúng chưa được tách hoàn toàn khi xử lí phần khô bằng HNO_3.

Đồng thời rửa hết vết Cl^-, thường có trong giấy lọc do sự hấp phụ HCl từ không khí, trong giấy lọc băng xanh bằng dung dịch H_2SO_4 5% nóng, bằng cách cho giấy lọc lên phễu và đổ đầy dung dịch axit trên ba lần ; hứng dung dịch rửa và bỏ đi.

Lọc dung dịch qua giấy lọc băng xanh nói trên, dịch lọc được hứng trong cốc 150ml, đã được rửa sạch vài lần bằng nước cất. Nếu dung dịch lọc bị đục thì lọc lại phần dung dịch này. Sau khi lọc xong, rửa bát sứ vậ giấy lọc 3 – 4 lần bằng dung dịch H_2SO_4 5% nóng. Thể tích của dung dịch lúc này cần không quá 40ml để sau này có thể định mức trong bình 50ml nếu màu của dung dịch nhạt.

Thêm vào dung dịch 2 – 3g tinh thể amoni hoặc kali persunfat, lắc đều cốc và đặt cốc lên trên bếp điện. Đun đến sôi và giữ sôi 2 – 3 phút, lấy ra để nguội, nếu dung dịch không có màu tím mà là màu đỏ chứng tỏ môi trường chưa đảm bảo độ axit để oxi hóa Mn^{2+} lên MnO_4^- khi đó cần phải thêm một vài giọt H_2SO_4 đặc vào. Lắc đều dung dịch, thêm 0,5g amoni persunfat, đun sôi dung dịch 2 – 3 phút để oxi hóa hoàn toàn Mn^{2+} và để phá hủy lượng persunfat còn dư.

Tùy thuộc vào màu sắc của dung dịch có thể chuyển màu vào bình định mức 50ml hoặc 100ml. Dùng nước cất rửa cốc một,hai lần sau đó dùng nước cất định mức đến vạch mức. Lắc đều rồi đo mật độ quang. Dung dịch so sánh là H_2SO_4 5%.

Tính kết quả : Dựa theo đường chuẩn tính hàm lượng MnO trong mẫu phân tích.

Hóa chất :

HNO_3 đặc (d = 1,4) : không có Cl^-.

H_2SO_4 đặc (d = 1,84) : không có Cl^-, thử bằng cách lấy khoảng 1ml axit, thêm vào 10ml nước cất, làm lạnh đến nhiệt độ phòng, thêm 2ml HNO_3 1 : 10 sau đó thêm 1ml $AgNO_3$ 1%, khuấy đều.

H_2SO_4 5%.

H_3PO_4 đặc (d = 1,7).

$AgNO_3$ 1%.

Amôni persunfat $(NH_4)_2S_2O_8$ tinh khiết hóa học.

Dung dịch chuẩn MnO : cân 0,2228g $KMnO_4$ tinh khiết hóa học cho vào trong cốc và hòa tan trong 150 – 200ml dung dịch K_2SO_4 5%. Thêm vào dung dịch này một vài giọt H_2O_2 và khuấy đều. Khi dung dịch mất màu, đun sôi dung dịch một vài phút để phá hủy H_2O_2 dư. Làm lạnh đến nhiệt độ phòng, rót dung dịch vào bình định mức 1 lít và thêm H_2SO_4 5% đến vạch mức. Lắc đều dung dịch. Dung dịch chứa 0,1mg MnO trong 1ml.

– *Thang chuẩn :* Lấy 5 bình định mức 100ml, cho vào các bình các thể tích dung dịch chuẩn với lượng 0,05 ; 0,1 ; 0,2 ; 0,6 ; 1,0mg MnO. Tiến hành hiện màu dung dịch như đối với mẫu phân tích.

8. Xác định tổng số CaO trong đất

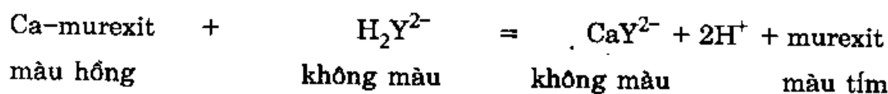
Hàm lượng CaO trong đất dao động trong khoảng 0,70 – 9,28%. Sự phân bố của canxi theo phẫu diện đất tùy thuộc vào hàm lượng cacbonat và đá mẹ tạo thành đất.

Trong các đất không cacbonat, hàm lượng canxi ở tầng trên thường lớn hơn so với tầng dưới.

Trong đất, canxi có thể ở trong các muối như : clorua, sunfat, bicabonat, hoặc ở dạng đolomit $CaCO_3.MgCO_3$. Canxi tham gia trong tinh thể khoáng và ở dạng trao đổi.

Để xác định canxi, hiện nay người ta hay sử dụng phương pháp complexon với chỉ thị murexit, fluorexon, Patton Reeder, cromogen đen..., hay dùng nhất là chỉ thị murexit.

a) Phương pháp complexon xác định canxi. Phương pháp dựa trên khả năng trilon B kết hợp với canxi, đã liên kết với murexit, tạo thành phức tan không màu và giải phóng chỉ thị ở dạng tự do :



Ca–murexit	+	H_2Y^{2-}	=	$CaY^{2-} + 2H^+$	+ murexit
màu hồng		không màu		không màu	màu tím

Sự phá hủy hợp chất phức của murexit với canxi xảy ra ở pH ≥ 12,5. Vì vậy cần thêm vào dung dịch phân tích dung dịch KOH hay NaOH 20% dùng làm dung dịch đệm. Magie không tạo với murexit thành hợp chất màu bền nhưng khi hàm lượng Mg^{2+} lớn hơn 3mg trong 100ml dung dịch sẽ nằm ở dưới dạng kết tủa $Mg(OH)_2$ hấp phụ chỉ thị làm cho việc chuyển màu của chỉ thị trở nên khó khăn.

– *Trình tự phân tích :* Lấy 25 – 50ml dung dịch sau khi xác định tổng lượng oxit hóa trị 3, cho vào bình tam giác 250ml, hàm lượng Ca^{2+} trong mẫu cần phải không quá 10mg. Thêm vào nếu thấy cần thiết, 2 – 3 giọt Na_2S 1% và 1 – 2 ml dung dịch hidroxylamin 5%, khuấy đều. Thêm nước cất đến thể tích 100ml, thêm 10 – 15ml NaOH hay KOH 20% để được pH ≥ 12,5. Lắc đều dung dịch rồi thêm 30 – 50 mg murexit, dung dịch lúc này có màu hồng. Dùng trilon B 0,01M chuẩn đến khi dung dịch có màu tím hoa cà.

– *Tính kết quả :*

$$CaO\,(\%) = \frac{V \cdot T_{CaO} \cdot 100}{a}$$

V : số ml trilon B dùng để chuẩn độ.

a : số gam đất tương ứng với thể tích dung dịch lấy để chuẩn độ.

T_{CaO} : độ chuẩn của trilon B theo CaO ; khi trilon B là 0,01M thì T_{CaO} = 0,0005608g

– *Hóa chất :*

Trilon B 0,01M.

Murexit $C_8H_8N_6O_6.H_2O$: 0,25g murexit trộn đều với 25g NaCl, giữ trong lọ màu, nút nhám.

b) Chuẩn độ canxi theo chỉ thị fluorexon. Fluorexon hay canxein được xem là chỉ thị tốt đối với canxi. Điểm đặc biệt của chỉ thị là đòi hỏi môi trường kiềm hơn so với murexit và dùng KOH để tạo môi trường, vì vậy chỉ thị thường được trộn cùng với muối kali.

– *Trình tự phân tích :* Lấy 25 – 50ml dung dịch sau khi xác định tổng lượng oxit hóa trị 3 cho vào bình tam giác 250ml.

Thêm vào, nếu thấy cần thiết, 2 – 3 giọt dung dịch Na_2S 1% và 1 – 2 ml dung dịch hiđroxylamin 5% khuấy đều. Thêm nước cất đến thể tích 100ml. Thêm tiếp 10 – 15ml KOH 20% để được pH = 11,5 – 13,2. Cho vào 30 – 50mg hỗn hợp chỉ thị fluorexon và KCl hoặc KNO_3 (1 : 100). Lắc đều, dung dịch có màu hồng ánh huỳnh quang lục. Chuẩn độ bằng trilon B 0,01M đến tắt ánh lục huỳnh quang.

– Tính kết quả như phương pháp dùng chỉ thị murexit.

9. Xác định tổng số MgO trong đất

Hàm lượng MgO trong đất nằm trong khoảng 0,50 đến 2,30%. Giống như các kim loại khác, trong đất magie có thể tồn tại ở dạng muối tan hoặc không tan, tham gia vào các tinh thể khoáng và ở dạng hấp phụ – trao đổi.

Hàm lượng magie trong đất nói chung đủ cung cấp cho nhu cầu dinh dưỡng của cây trồng, nhưng trong đất cát nhẹ thường, hay thiếu magie. Khi đó cây có hiện tượng bạc lá.

Để xác định magie tổng số trong đất, hiện nay người ta dùng phương pháp complexon.

a) Phương pháp complexon xác định magie. Cromogen đen (hay Eriocrom T đen, ET.OO) tác dụng với magie (cũng như canxi) thành một hợp chất có màu đỏ nho. Khi cho trilon B vào dung dịch này, magie (cũng như canxi) sẽ tạo phức bền với trilon B và giải phóng ra chỉ thị ở dạng tự do có màu xanh nước biển.



$$MgInd^- + H_2Y^{2-} = MgY^{2-} + 2H^+ + Ind^{2-}$$

đỏ nho — không màu — xanh nước biển

Sự đổi màu của phức giữa cromogen đen và magie xảy ra trong môi trường kiềm (pH = 10) vì vậy cần thêm vào dung dịch hỗn hợp đệm $NH_4Cl + NH_4OH$ để được pH này.

Hàm lượng magie tổng số được xác định trong dung dịch sau khi tách SiO_2 và các oxit hóa trị 3. Ion Cu^{2+} (dù là vết) cũng cản trở phép xác định vì vậy cần thêm Na_2S để kết tủa Cu^{2+} dưới dạng CuS hoặc thêm natri đietylđithiocacbamat để tạo phức với đồng. Trong môi trường kiềm, mangan sẽ kết tủa dưới dạng hidroxit rồi chuyển thành kết tủa đioxit có tính oxi hóa và phá hủy màu của chỉ thị, để loại trừ ảnh hưởng này cần thêm hiđroxylamin hoặc hiđrazinsunfat vào trong dung dịch.

Phương pháp complexon xác định magie có thể tiến hành theo hai cách :

– Chuẩn độ trực tiếp trong cùng một mẫu với canxi.

– Theo hiệu số kết quả chuẩn độ tổng lượng canxi và magie theo chỉ thị cromogen đen và chuẩn canxi theo murexit.

b) Xác định trực tiếp magie : Phá hủy murexit trong dung dịch sau khi đã xác định canxi bằng HCl loãng (1 : 1). Để không dùng dư axit, người ta cho vào trong dung dịch một miếng nhỏ giấy chỉ thị công gô đỏ rồi thêm từng giọt axit vào đến

khi màu của chỉ thị chuyển sang màu xanh tím. Để tăng tốc độ phá hủy murexit có thể đun dung dịch đến nhiệt độ 40 – 50°C.

Sau khi dung dịch mất màu, thêm vào dung dịch hỗn hợp đệm $NH_4Cl + NH_4OH$ đến khi chỉ thị công gô đỏ chuyển sang màu đỏ. Khi đó pH của dung dịch bằng 5,2. Thêm tiếp 20ml hỗn hợp đệm, để đảm bảo môi trường kiềm, tương ứng với pH = 10. Thêm vào dung dịch 30 – 50mg cromogen đen, dùng trilon B 0,01M đến khi màu dung dịch chuyển từ đỏ nho sang xanh nước biển thì dừng.

– *Tính kết quả*

$$MgO\,(\%) = \frac{V \cdot T_{MgO} \cdot 100}{a}$$

V : số ml trilon B dùng để chuẩn độ.

a : số gam đất tương ứng với thể tích dung dịch lấy để chuẩn độ.

T_{MgO} = 0,0004032g

– *Hóa chất :*

HCl loãng (1 : 1).

Giấy chỉ thị công gô đỏ.

Dung dịch đệm $NH_4Cl + NH_4OH$ (pH = 10) : hòa tan 25g NH_4Cl trong 100ml nước, thêm 200ml NH_4OH 20% sau đó thêm nước cất thành 1 lít.

Cromogen đen : 0,25g chỉ thị trộn đều với 25g NaCl. Hoặc có thể dùng dưới dạng dung dịch : 0,2g chỉ thị hòa tan trong 20ml dung dịch đệm (pH = 10) rồi thêm etanol đến 100ml. Giữ trong lọ tối. Dung dịch dùng được trong 10 – 12 ngày.

c) Xác định magie theo hiệu số. Lấy 25 – 50ml (bằng thể tích lấy để xác định canxi) dung dịch sau khi tách SiO_2 và các oxit hóa trị 3 cho vào bình tam giác 250ml. Thên vào 2–3 giọt dung dịch Na_2S 1% và 1–2ml dung dịch hidroxylamin clorua 5%, lắc đều, thêm nước cất đến thể tích 100ml.

Thêm 10ml dung dịch đệm pH = 10, lắc đều, cho vào dung dịch 30 – 50mg chỉ thị cromogen đen, lắc đều rồi dùng trilon B 0,01M chuẩn đến khi màu dung dịch chuyển từ đỏ sang xanh nước biển.

Lấy thể tích trilon B đã tiêu tốn trừ đi thể tích trilon B dùng chuẩn độ canxi, chúng ta được thể tích trilon B dùng để chuẩn độ magie.

d) Phương pháp complexon xác định canxi, magie khi có mặt sắt (III) và nhôm. Phương pháp dựa trên sự che ion Fe^{3+} và Al^{3+} bằng trietanolamin dưới dạng hợp chất phức hòa tan, các phức này sẽ không cản trở việc dùng complexon xác định Ca^{2+} và Mg^{2+}.

Tiến hành xác định trong 2 phần dung dịch. Một phần xác định canxi theo chỉ thị murexit, một phần xác định tổng số canxi và magie theo chỉ thị metylthi mol xanh hay thimol phtalecxon bởi vì phức của Fe^{3+} và trietanolamin phá hủy chỉ thị cromogen đen.

Phương pháp có thể sử dụng trong phân tích tổng số cũng như trong các trường hợp khi sắt và nhôm cản trở việc xác định canxi và magie bằng phương pháp complexon.

– *Xác định canxi.* Lấy 10ml dung dịch sau khi tách $SiO_2.nH_2O$ cho vào bình tam giác 250ml. Thêm từng giọt NaOH 10% vào đến khi xuất hiện đục, sau đó thêm vài giọt HCl 10% để hòa tan kết tủa (đục).

Thêm nước cất đến thể tích 100ml rồi rót vào 5 – 15ml trietanolamin (1 : 1 hoặc 1 : 3, (tùy thuộc vào hàm lượng sắt), lắc đều, giữ yên vài phút rồi thêm 10ml NaOH 10%, thêm murexit rồi dùng trilon B 0,01M để chuẩn đến khi chỉ thị đổi màu.

– *Xác định tổng lượng canxi và magie.* Lấy 10ml dung dịch lọc sau khi tách $SiO_2.nH_2O$ cho vào bình tam giác 250ml rồi trung hòa bằng NaOH 10% đến khi xuất hiện đục. Hòa tan đục (kết tủa) bằng vài giọt dung dịch HCl 10% rồi thêm nước cất đến 100ml. Thêm vào dung dịch lượng trietanolamin bằng lượng đã thêm khi xác định canxi, lắc đều rồi giữ yên 1 – 2 phút. Thêm 10ml dung dịch đệm NH_4Cl + NH_4OH, lắc đều, sau đó thêm vào chỉ thị metylthimol xanh hay thimolphtalecxon. Lắc đều dung dịch rồi dùng trilon B 0,01M đến khi màu của dung dịch thay đổi.

– *Tính kết quả :* Kết quả được tính tương tự như các phương pháp đã nêu trên.

– *Hóa chất :*

NaOH 10%.

HCl 10%.

Trietanolamin $C_6H_{15}O_3N$ pha loãng bằng nước theo tỉ lệ 1 : 1 hay các tỉ lệ khác. Dung dịch nước có tính kiềm mạnh.

Murexit

Đệm NH_4Cl + NH_4OH.

Metylthimol xanh : Dung dịch nước không bền vì vậy dùng dưới dạng khô bằng cách trộn 0,25g chỉ thị với 25g KNO_3 tinh khiết hóa học. Hỗn hợp được giữ trong lọ thủy tinh màu, nút nhám.

– *Chú thích :*

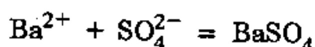
Khi hàm lượng mangan cao, phức giữa Mn (II) với trietanolamin có màu xanh lá cây. Trong trường hợp này cần phải thêm một lượng lớn hidroxylamin. Khi có mặt một lượng lớn đồng, phức của Cu (II) với trietanolamin có màu xanh nước biển. Để phá hủy phức này, người ta thêm từng giọt axit thiogluconic đến khi dung dịch mất màu, thêm dư 1 – 2 giọt nữa.

10. Xác định tổng số lưu huỳnh trong đất

Hàm lượng lưu huỳnh trong đất dao động trong khoảng 0,01 – 0,66% SO_3. Sự tích lũy lưu huỳnh trong đất là do vòng tuần hoàn sinh học của nguyên tố này.

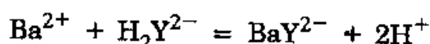
Trong đất thường gặp những hợp chất khoáng của lưu huỳnh như thạch cao $CaSO_4.2H_2O$; ở đất mặn thường có tenardit Na_2SO_4 ; mirabilit $Na_2SO_4.10H_2O$, kizerit $MgSO_4.H_2O$. Trong đất đầm lầy thường gặp pirit và marcazit FeS_2. Trong đất phèn, hay gặp lưu huỳnh dưới dạng pirit và các sunfat sắt, nhôm. Để xác định lưu huỳnh trong đất, ngoài phương pháp trọng lượng người ta có thể dùng phương pháp complexon hoặc phương pháp dùng bari cromat (theo Xlap)

Phương pháp complexon xác định lưu huỳnh dưới dạng sunfat. Để xác định sunfat bằng phương pháp complexon người ta dùng dư Ba^{2+} để kết tủa SO_4^{2-} :



$$Ba^{2+} + SO_4^{2-} = BaSO_4$$

Sau đó dùng trilon B chuẩn độ lại lượng Ba^{2+} còn dư :



$$Ba^{2+} + H_2Y^{2-} = BaY^{2-} + 2H^+$$

Complexonat bari có độ bền thấp (pK = 7,8). Vì vậy để chuẩn độ Ba^{2+} theo chỉ thị cromogen đen, trong dung dịch cần phải có ion magie, ion này tạo với complexon III thành phức bền hơn (pK = 8,7). Sự chuyển màu của dung dịch xảy ra khi toàn bộ Mg^{2+} trong phức của magie với cromogen đen đã liên kết với trilon B.

Trình tự phân tích : Lấy 50 - 100 ml dung dịch lọc sau khi đã tách sắt, nhôm cho vào bình tam giác 250 ml.

Thêm nước đến thể tích 100ml và thêm vào một mảnh nhỏ công gô đỏ rồi dùng axit HCl (1 : 1) để axit hóa đến khi chỉ thị có màu tím xanh (pH = 3,0).

Đun nóng dung dịch đến sôi rồi thêm vào 10ml hỗn hợp $BaCl_2 + MgCl_2$, lắc đều rồi giữ yên 1 - 2 giờ hoặc để yên qua đêm. Không lọc kết tủa $BaSO_4$, thêm vào dung dịch 2 - 3 giọt dung dịch Na_2S 1%, 1 - 2 ml hiđroxylamin clorua 5% và trung hòa bằng từng giọt NH_4OH 10% đến khi chỉ thị chuyển sang màu đỏ (pH = 5,2).

Thêm 10ml hỗn hợp $NH_4Cl + NH_4OH$ (pH = 10), thêm chỉ thị cromogen đen, lắc đều dung dịch rồi dùng trilon B 0,01M chuẩn đến khi màu của chỉ thị thay đổi. Ở điểm cuối của quá trình chuẩn độ cần thêm vào một lượng vừa phải chỉ thị và dung dịch đệm.

Cũng lấy một thể tích dung dịch lọc sau khi đã tách sắt và nhôm như trên để chuẩn độ lượng $Ca^{2+} + Mg^{2+}$ có trong mẫu.

Đồng thời lấy 10ml hỗn hợp $BaCl_2 + MgCl_2$ cho vào bình tam giác 250ml thêm nước đến 100ml, thêm 10ml hỗn hợp $NH_4Cl + NH_4OH$ (pH = 10), chỉ thị cromogen đen rồi dùng trilon B 0,01M chuẩn độ đến khi đổi màu chỉ thị.

Tính kết quả :

$$SO_4^{2-}(\%) = \frac{[V_1 - (V_2 - V_3)]T_{SO_4^{2-}} \cdot 100}{a}$$

V_1 : thể tích trilon B dùng để chuẩn độ hỗn hợp $BaCl_2 + MgCl_2$

V_2, V_3 : thể tích trilon B dùng để chuẩn độ mẫu phân tích và tổng lượng $Ca^{2+} + Mg^{2+}$ có trong mẫu phân tích.

a : số gam đất tương ứng với thể tích dung dịch lấy để chuẩn độ.

$T_{SO_4^{2-}}$: độ chuẩn của trilon B theo sunfat, khi nồng độ trilon B là 0,01M thì giá trị này là 0,0009606g.

Hóa chất :

HCl 1 : 1.

Giấy chỉ thị công gô đỏ.

Hỗn hợp kết tủa $BaCl_2$ + $MgCl_2$: Hòa tan 2,44g $BaCl_2.2H_2O$ trong 1 lít nước cất, được dung dịch $BaCl_2$ 0,01M.

Hòa tan 2,03g $MgCl_2.6H_2O$ trong 1 lít nước cất, được dung dịch $MgCl_2$ 0,01M.

Trộn lẫn 2 dung dịch này với thể tích bằng nhau.

Dung dịch $Na_2S.9H_2O$ 1%. Dung dịch được giữ không quá 5 ngày, có thể thay bằng natri dietyldithiocarbaminat 0,1%, dùng 1 ml dung dịch này.

Hidroxylamin clorua 5%.

NH_4OH 10%.

Hỗn hợp đệm NH_4Cl + NH_4OH.

Chỉ thị cromogen đen.

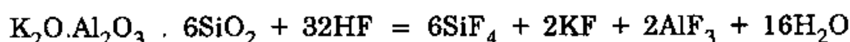
11. Xác định tổng số K_2O và Na_2O trong đất

Hàm lượng tổng số của các kim loại kiềm trong đất không lớn lắm. K_2O dao động trong khoảng 1,29 - 2,35%, Na_2O : 0,58 - 1,88%. Trừ đất mặn, hầu hết các loại đất đều có hàm lượng K_2O cao hơn Na_2O.

Kali và natri tham gia vào trong thành phần của fenspat và các khoáng khác, chỉ một phần nhỏ là ở dạng trao đổi.

Để chuyển các kim loại kiềm trong các khoáng silicat và alumino silicat sang dạng dung dịch, hiện nay dùng phổ biến phương pháp xử lí mẫu đất bằng axit HF hoặc bằng hỗn hợp NH_4Cl + $CaCO_3$, theo Smit). Xác định các kim loại kiềm trong dung dịch bằng phương pháp quang kế ngọn lửa.

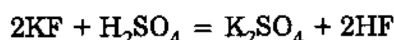
a) Phá hủy đất bằng axit HF. Sự phân hủy silicat bằng axit HF xảy ra như sau :



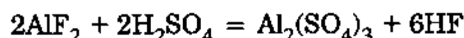
$$K_2O.Al_2O_3 . 6SiO_2 + 32HF = 6SiF_4 + 2KF + 2AlF_3 + 16H_2O$$

SiF_4 là hợp chất dễ bay hơi, khi chưng dung dịch SiF_4 sẽ thoát ra dưới dạng khí.

Khi có mặt H_2SO_4 các kim loại dưới dạng muối florua sẽ chuyển sang dạng sunfat



$$2KF + H_2SO_4 = K_2SO_4 + 2HF$$



$$2AlF_2 + 2H_2SO_4 = Al_2(SO_4)_3 + 6HF$$

Như vậy axit sunfuric đảm bảo đẩy hoàn toàn florua ra khỏi dung dịch.

– *Trình tự phân tích :* Cân 0,5g đất đã nghiền mịn cho vào chén platin, cho vào 1ml nước cất, cô khô sau đó cho chén vào lò nung 1,5 - 2 giờ ở nhiệt độ 400 - 450°C để đốt cháy chất hữu cơ. Để nguội chén, cho vào 1ml nước cất, 1ml H_2SO_4 đặc lắc đều. Cho chén vào trong tủ hốt rồi thêm vào 15ml HF. Phải hết sức cẩn thận vì hỗn hợp sôi mạnh, nên đi găng tay cao su và kính bảo hộ. Đun trong tủ hốt để phân giải khoáng và tách SiF_4, chưng cẩn thận dung dịch đến khi xuất hiện khí SO_3 ; không nên đun mạnh để tránh hiện tượng bắn các chất trong chén ra ngoài. Lấy phần khô trong chén ra để nguội rồi lại thêm vào trong chén 10ml HF và chưng khô dung dịch. Sau khi cô cạn có thể tăng nhiệt độ của bếp điện để tách hết HF và khí SO_3. Hòa tan phần khô trong chén bằng 5ml HCl (1 : 1), đậy chén bằng kính đồng hồ và đun trên bếp điện 10 - 15 phút, thêm vào đây 10 - 15ml

nước cất nóng và lọc dung dịch qua giấy lọc băng trắng vào bình định mức 100ml. Rửa cặn và giấy lọc vài lần, hứng dung dịch vào bình định mức nói trên. Để nguội rồi định mức đến mạch mức. Dung dịch dùng để xác định K_2O và $N_{12}O$ bằng quang kế ngọn lửa.

- *Hóa chất :*

HF 40% tinh khiết để phân tích.

H_2SO_4 đặc (d = 1,84).

b) Phá hủy đất bằng H_2SO_4 kết hợp với $HClO_4$. Phương pháp này không phân hủy triệt để bằng hai phương pháp trên nhưng có thể tăng hiệu lực phân hủy bằng cách ngâm đất sau khi đã phá hủy và lên thể tích đến 100ml trong thời gian 4 ngày. Quá trình phá hủy mẫu nhanh và đơn giản, kết quả phân tích thu được cũng khá tốt nên nhiều nhà nghiên cứu đất ở Việt Nam đã đề nghị dùng phương pháp này để xác định kali tổng số trong đất.

Trình tự phân tích : Cân 1gam đất đã nghiền nhỏ cho vào bình Kenđan hoặc bình tam giác 100ml. Cho vào bình 5ml nước cất, tiếp đó 5ml H_2SO_4 đặc, đậy bình bằng một chiếc phễu nhỏ.

Đun sôi đến khi ngừng thoát khói mạnh, lấy ra để nguội rồi cho vào 4 giọt $HClO_4$ 70% rồi tiếp tục đun cho đến khi cặn trở nên trắng (nếu chưa trắng thì thêm 2 - 3 giọt $HClO_4$ 70% và tiếp tục đun thêm).

Chuyển toàn bộ sang bình định mức 100ml, tráng sạch bình Kenđan, đợi nguội thì thêm nước cất đến vạch. Đảo đều vài lần và để lắng trong 4 ngày. Lấy dung dịch xác định K, Na bằng phương pháp quang kế ngọn lửa. Dung dịch có thể dùng để xác định P tổng số.

c) Pha thang chuẩn để xác định kali, natri bằng quang kế ngọn lửa

- Dung dịch chuẩn gốc :

Cân chính xác 1,584g KCl (hoặc 1,886g NaCl) tinh khiết đã sấy khô ở 100 - 105°C đến khối lượng không đổi hòa tan trong bình định mức 1 lít rồi dùng nước cất định mức đến 1 lít. Dung dịch có nồng độ 1mg K_2O/ml (hoặc 1 mg Na_2O/ml).

- Thang chuẩn khi phá hủy mẫu bằng các phương pháp khác nhau :

+ Phá hủy mẫu bằng HF + H_2SO_4 : Lấy 5 bình định mức 100ml, cho vào mỗi bình 5 ml HCl (1 : 1) và các thể tích dung dịch gốc tương ứng là 0 ; 5 ; 10 ; 15 ; 20 ml rồi thêm nước cất đến 100ml.

+ Phá hủy mẫu bằng $(NH_4)_2CO_3$ + $CaCO_3$: Lấy 5 bình định mức 100ml, cho vào mỗi bình 10ml $(NH_4)_2CO_3$ 10% và các thể tích dung dịch chuẩn gốc tương ứng là : 0 ; 2,5 ; 5,0 ; 7,5 ; 10ml rồi thêm nước cất đến 100ml.

+ Phá hủy mẫu bằng H_2SO_4 + $HClO_4$: Lấy 6 bình định mức 100ml, cho vào mỗi bình 15 ml H_2SO_4 (1 : 3) và các thể tích dung dịch chuẩn gốc tương ứng : 0 ; 2 ; 5 ; 10 ; 20 ; 30 ml rồi thêm nước cất đến vạch mức.

Chương 7

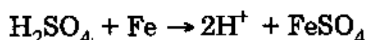
XÁC ĐỊNH CÁC CHẤT DINH DƯỠNG DỄ TIÊU TRONG ĐẤT

1. Xác định nitơ dễ tiêu

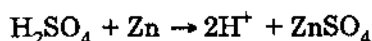
Trong đất nitơ (đạm) tồn tại chủ yếu ở dạng N – hữu cơ. Tuy nhiên cây trồng chỉ sử dụng chúng dưới dạng N – khoáng (NH_4^+ , NO_3^-). Đây là nitơ dễ tiêu trực tiếp nhưng thường có hàm lượng nhỏ trong đất ; NH_4^+ chiếm ưu thế hơn NO_3^- trong đất ngập nước, còn NO_3^- lại nhiều hơn ở đất khô có quá trình oxi hóa mạnh. Do hàm lượng amôn (NH_4^+) và nitrat (NO_3^-) thấp và luôn biến động, lại thường xuyên được bổ sung do quá trình khoáng hóa các chất hữu cơ nên trên thực tế kết quả phân tích NH_4^+ , NO_3^- không phản ánh đầy đủ khả năng cung cấp N – dễ tiêu của đất. Vì vậy nitơ dễ tiêu trong đất còn được đánh giá thông qua N – thủy phân. Chiurin và Cononova coi nitơ thủy phân được tách ra khỏi đất dưới tác dụng của H_2SO_4 0,5N còn Cornfild cho đó là dạng nitơ bị phân giải bởi NaOH 1N.

a) Xác định nitơ thủy phân theo phương pháp Chiurin–Cononova

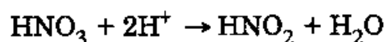
– *Nguyên lí phương pháp :* Nitơ thủy phân được chiết rút dưới tác dụng của H_2SO_4 0,5N, gồm NO_3^- , NO_2^- , NH_4^+ và N– hữu cơ dễ phân hủy. NO_3^- và NO_2^- được khử về dạng NH_4^+ nhờ chất xúc tác Fe và Zn :



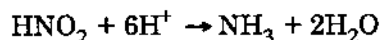
$$H_2SO_4 + Fe \rightarrow 2H^+ + FeSO_4$$



$$H_2SO_4 + Zn \rightarrow 2H^+ + ZnSO_4$$



$$HNO_3 + 2H^+ \rightarrow HNO_2 + H_2O$$



$$HNO_2 + 6H^+ \rightarrow NH_3 + 2H_2O$$



$$2NH_3 + H_2SO_4 \rightarrow (NH_4)_2SO_4$$

N – hữu cơ được giải phóng ra nhờ quá trình oxi hóa phân giải chúng dưới tác dụng của H_2SO_4 và $K_2Cr_2O_7$.

Sau khi chuyển các dạng N về dạng NH_4^+, $(NH_4)_2\ SO_4$, dùng phương pháp Kenđan cất nitơ như xác định N – tổng số.

– *Trình tự phân tích :*

Lấy 20 gam đất khô không khí đã qua rây 1mm lắc với 100ml H_2SO_4 0,5N trong 3 phút trong bình tam giác 250ml.

Để yên qua đêm (16 – 18 giờ) rồi lọc.

Lấy 25ml dịch lọc vào bình tam giác 100ml (chịu nhiệt).

Cho vào 0,5 gam bột kẽm rồi đun cho tan hết, để nguội.

Cho 5 ml H_2SO_4 đặc đun đến khi có khói trắng và dung dịch có màu nâu.

Cho vào 2,5ml $K_2Cr_2O_7$10%, đốt thêm 10 phút lúc này dung dịch có màu xanh lục (Cr^{3+}).

Chuyển toàn bộ dung dịch sang bình cất nitơ Kenđan và làm như cất nitơ tổng số.

Bình hấp phụ : 20ml H_3BO_3 4% + 3 giọt chỉ thị màu bromocresol xanh – metyl đỏ (hoặc chỉ thị màu Tasirô)

– *Tính kết quả :*

$$N\text{–thủy phân (mg/100g đất)} = \frac{V.N.14.K}{W} \cdot 100$$

V : số ml HCl (hoặc H_2SO_4) tiêu chuẩn dùng chuẩn độ.

N : nồng độ đương lượng của HCl (thường dùng 0,02N).

W : khối lượng đất phân tích (20g).

K : hệ số pha loãng $\left(\frac{100}{25} = 4\right)$.

Rút gọn công thức trên :

N_{tf} (mg/100gđất) = V.5,6

Nếu N_{tf} > 6mg / 100g đất là giàu ; 4–6 mg nitơ / 100g đất là trung bình và < 4 mg nitơ /100g đất là nghèo.

– *Hóa chất :*

H_2SO_4 0,5N : 14ml H_2SO_4 đặc (d = 1,84) pha thành 1000ml.

Bột kẽm : trộn đều 9 phần bột kẽm với 1 phần bột sắt.

H_3BO_3 4% : 40 gam H_3BO_3 pha thành 1000ml.

$K_2Cr_2O_7$ 10% : 10 gam $K_2Cr_2O_7$ pha thành 100ml.

HCl 0,02N tiêu chuẩn.

NaOH 40% : 40 gam NaOH pha thành 100ml.

b) Xác định nitơ bị NaOH 1N phân giải theo phương pháp Cornfild

– *Nguyên lí phương pháp :* Phương pháp Cornfild xác định nitơ dễ tiêu dạng NH_4^+ và một phần N – hữu cơ dễ phân giải do NaOH 1N. Trong môi trường kiềm NH_3 giải phóng được hấp phụ bởi H_3BO_3 (hay H_2SO_4 loãng tiêu chuẩn) trong đĩa Convây. Dùng axit chuẩn lượng kiềm tạo thành.

– *Trình tự phân tích :*

2 gam đất qua rây 1mm cho vào đĩa lớn.

2ml H_3BO_3 2% và 1 giọt chỉ thị Tasirô ở chén nhỏ.

Cho vào đĩa lớn 5ml NaOH 1N. Đậy kín nhanh chén Convây.

Láng nhẹ cho NaOH lan đều vào đất. Để yên 40–42 giờ trong tủ ấm 28°C.

Chuẩn dung dịch H_3BO_3 trong chén nhỏ bằng H_2SO_4 0,01N tiêu chuẩn.

– *Tính kết quả :*

$$N_{tf}\ (\text{mg/100g đất}) = \frac{V.N.14.100}{W}.\ \text{Rút gọn } N_{tf} = V.7\ (\text{mg/100g đất})$$

– *Hóa chất :*

H_3BO_3 2% : 2g H_3BO_3 hòa tan thành 100ml.

NaOH 1N : 4g NaOH pha thành 100ml.

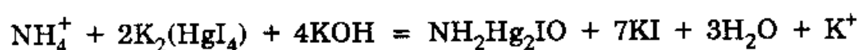
H_2SO_4 0,01N tiêu chuẩn.

Chỉ thị Tasirô (còn gọi là Groac, Andensen, Jensen) 0,05g metilen xanh hòa bằng 5ml nước cất, cho vào 100ml cồn và hòa thêm 0,15g metyl đỏ quấy cho tan rồi chứa trong lọ màu tối.

c) Xác định nitơ dễ tiêu dạng amon (NH_4^+) *theo phương pháp so màu*

NH_4^+ trong đất tồn tại một phần ở dạng hòa tan trong dung dịch đất, phần lớn chúng ở dạng trao đổi, do vậy phải dùng dung dịch muối trao đổi. Mặt khác NH_4^+ dễ bị biến đổi thành các dạng khác (NO_3^-), nên xác định NH_4^+ cần phải phân tích ngay trong mẫu đất tươi mới lấy về.

– *Nguyên lí phương pháp.* NH_4^+ được chiết rút ra từ đất bằng dung dịch muối thích hợp (KCl 0,1N) sẽ tác dụng với thuốc khử Netle (Nessler) trong môi trường kiềm tạo thành phức chất màu vàng :



$$NH_4^+ + 2K_2(HgI_4) + 4KOH = NH_2Hg_2IO + 7KI + 3H_2O + K^+$$

Độ đậm nhạt của màu vàng tỉ lệ thuận với lượng NH_4^+ có trong dung dịch. Giới hạn nồng độ so màu NH_4^+ là 0,002 mg/ml. Ở nồng độ NH_4^+ cao sẽ xuất hiện kết tủa vàng ảnh hưởng đến kết quả so màu. Mặt khác các ion Ca^{2+}, Mg^{2+} khi có mặt Netle sẽ gây đục dung dịch nên cần phải loại trừ chúng bằng muối Seignetle (natri kali tatrat).

Chất chiết rút NH_4^+ có thể dùng KCl, NaCl hoặc CH_3COONa

– *Trình tự phân tích :*

10g đất tươi lắc với 100ml KCl 0,1N trong bình tam giác 250ml trong 5 phút rồi để yên 1 giờ (có thể để qua đêm, khi đó phải cho 5 giọt toluen để ngăn các quá trình sinh học), sau đó lọc, rồi lấy 5ml dịch lọc vào bình định mức 25ml (lượng dịch lọc có thể lấy 10, 20ml phụ thuộc lượng NH_4^+).

Thêm 1ml dung dịch Seignetle 50%, 1ml dung dịch Netle rồi định mức đến vạch.

So màu trên máy hoặc với thang màu tiêu chuẩn trong vòng 1 giờ.

- *Tính kết quả :*

$$NH_4^+ \text{ (mg/100g đất)} = \frac{C.V.V_2.k}{W.V_1} \cdot 100$$

V : số ml dung dịch chiết rút (100ml)

V_1 : số ml dung dịch mẫu đem so màu (5ml)

V_2 : thể tích hiện màu (25ml)

W : khối lượng đất cân (g)

C : nồng độ so màu (mg/ml)

k : hệ số chuyển đất tươi sang đất khô kiệt.

Rút gọn lại : NH_4^+ (mg/100gđ) = k.C.5000

- *Thang màu chuẩn :* Lấy 10 bình định mức 25 ml, lần lượt cho vào các thể tích khác nhau dung dịch NH_4Cl 0,01 mg N/ml tiêu chuẩn : 0 - 1 - 2 - 4 - 6 - 8 - 10 - 12 - 14 - 16ml.

Thêm vào mỗi bình 1ml dung dịch Seignetle, 1ml Netle. Định mức đến vạch rồi so màu trên máy so màu quang điện.

- *Hóa chất :*

KCl 0,1N : 7,45g KCl pha thành 1000ml bằng nước cất.

Muối Seignetle 50% : 50 gam $KNaC_4H_4O_6 \cdot 4H_2O$ (natri kali tatrat) hòa tan trong 100ml nước cất.

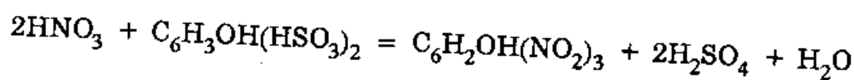
NH_4Cl 0,01mg N/ml : Cân chính xác (bằng cân phân tích) 0,3820g NH_4Cl tinh khiết đã sấy khô ở 105°C, pha thành 1000ml bằng nước cất được dung dịch NH_4Cl 0,1 mg N/ml. Lấy 50 ml dung dịch này pha thành 500ml được dung dịch NH_4Cl 0,01mgN/ml.

Netle : 15g HgI_2 và 10g KI hòa trong 500ml nước cất rồi cho vào 40g NaOH. Khuấy đều cho tan, để lắng vài ngày gạn dung dịch trong vào bình màu nâu để dùng. Dung dịch Netle có màu vàng nhạt.

Nếu không có HgI_2 thì pha như sau : 9g $HgCl_2$ và 15,5g KI hòa tan trong 500ml nước cất. Cho vào 40g NaOH khuấy cho tan, để lắng vài ngày gạn nước trong để dùng.

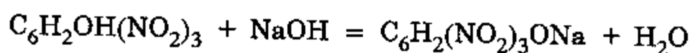
d) Xác định NO_3^- trong đất theo phương pháp disunphophenic (theo Grandwal, Lajoux). Cũng như NH_4^+, NO_3^- thường biến động phụ thuộc vào độ ẩm đất và thế oxi hóa - khử, vì vậy cần xác định chúng trong đất tươi. Tuy nhiên để chiết NO_3^- chỉ cần dùng nước cất.

- *Nguyên lí phương pháp :* NO_3^- trong dung dịch đất tác dụng với axit disunphophenic theo phản ứng :



$$2HNO_3 + C_6H_3OH(HSO_3)_2 = C_6H_2OH(NO_2)_3 + 2H_2SO_4 + H_2O$$

Trinitrophenol $[C_6H_2OH(NO_2)_3]$ không màu trong môi trường axit, nhưng có màu vàng trong môi trường kiềm :



$$C_6H_2OH(NO_2)_3 + NaOH = C_6H_2(NO_2)_3ONa + H_2O$$

(phức chất màu vàng – natripicrat)

Cường độ màu vàng tỉ lệ thuận với NO_3^- trong dung dịch nên có thể so màu với thang màu tiêu chuẩn, hoặc trên máy so màu quang điện.

– *Trình tự phân tích :*

20 gam đất tươi lắc với 100ml nước cất trong 5 phút rồi lọc (có thể cho thêm vài tinh thể K_2SO_4 để chống đục).

Lấy 50ml dịch lọc vào chén sứ rồi cô cạn cách thủy. Đồng thời cũng lấy dung dịch KNO_3 0,1 mg/ml tiêu chuẩn cô cạn như vậy (dung dịch tiêu chuẩn lấy 0,5 – 1,0 – 2,0 – 3,0ml).

Để nguội rồi cho vào 1 ml axit đisunphophenic. Dùng đũa thủy tinh khuấy tan hết. Để yên 10 phút rồi cho khoảng 15ml nước cất.

Dùng NaOH 10% để trung hòa đến khi dung dịch chuyển thành màu vàng (cho dư vài giọt NaOH).

Định mức đến 50ml rồi so màu trên máy với kính lọc màu xanh biển), hoặc so màu với thang chuẩn.

– *Tính kết quả :*

$$NO_3^- \text{ (mg/100gđất)} = \frac{C.V.V_2.k}{W.V_1} . 100$$

C : nồng độ so màu (mg/ml).

V : thể tích dịch chiết đất (100ml).

V_1 : thể tích dịch lấy hiện màu (50ml).

V_2 : thể tích hiện màu (50ml).

W : khối lượng đất cân (g)

k : hệ số chuyển đất tươi thành đất khô.

Rút gọn : NO_3^- (mg/100gđ) = k.C.500

– *Hóa chất :*

Axit đisunphophenic : 3g phenol sạch hòa tan trong 20ml H_2SO_4 đặc (d = 1,84). Đun sôi cách thủy 6 giờ (có lắp ống ngưng lạnh cao 30cm).

NaOH 10% : 10 gam NaOH pha thành 100 ml bằng nước cất.

Dung dịch KNO_3 0,1 mg N/ml tiêu chuẩn : cân chính xác 0,7216g KNO_3 khan (đã sấy ở 105°C) hòa tan thành 1000ml trong bình định mức bằng nước cất (cho 1ml toluen để diệt khuẩn).

– Thang chuẩn : 4 bình định mức 50ml đựng dung dịch tiêu chuẩn đã cô cạn và hiện màu như làm mẫu. Lượng nitrat trong 4 bình này là 0,05 – 0,1 – 0,2 – 0,3 mg N.

– *Ghi chú :*

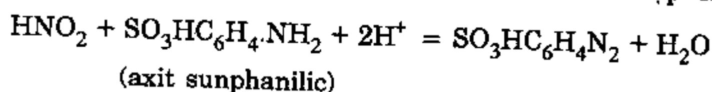
+ Đất có nhiều NH_4^+ sẽ ảnh hưởng đến kết quả phân tích. Do vậy phải cho vào nước lọc lấy phân tích vài giọt K_2SO_4 10%. Ở đất mặn cần cho vài giọt Ag_2SO_4 để kết tủa Cl^-.

+ Nếu phenol có màu thì phải tinh chế lại.

+ Nhược điểm phương pháp này là phải cô cạn dung dịch phân tích và độ nhạy kém, nên có thể khử NO_3^- về NH_4^+ rồi xác định NH_4^+ tạo thành.

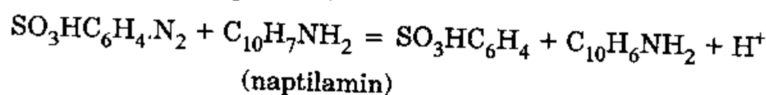
e) Xác định nitrit trong đất theo phương pháp Griss

– *Nguyên lí phương pháp :* Nitrit (NO_2^-) được hình thành trong đất do cả 2 quá trình : quá trình nitrat hóa và phản nitrat. Việc xác định NO_2^- dựa trên cơ sở phản ứng giữa NO_2^- với axit sunphanilic và naptilamin thành hợp chất màu đỏ hồng :



$$HNO_2 + SO_3HC_6H_4.NH_2 + 2H^+ = SO_3HC_6H_4N_2 + H_2O$$

(axit sunphanilic)



$$SO_3HC_6H_4.N_2 + C_{10}H_7NH_2 = SO_3HC_6H_4 + C_{10}H_6NH_2 + H^+$$

(naptilamin)

Cường độ màu tỉ lệ với nồng độ NO_2^- nên có thể dùng phương pháp so màu xác định chúng.

– *Trình tự phân tích :*

20g đất lắc với 100ml nước cất trong 5 phút. Để yên 15 phút rồi lọc. Nếu dịch lọc đục cần đổ trở lại phễu lọc.

Lấy 40ml dịch lọc cho vào bình định mức 50ml.

Cho vào 8ml thuốc thử Griss. Định mức đến vạch. Lắc đều rồi so màu với kính lọc màu có màu xanh lục, hoặc so màu với dãy tiêu chuẩn.

– *Thang màu tiêu chuẩn :* Lấy 10 bình định mức 50ml cho vào các thể tích khác nhau dung dịch NO_2^- tiêu chuẩn (1.10^{-3} mg N/ml) : 2 – 4 – 6 – 8 – 10 – 12 – 14 – 16 – 18 – 20ml. Tương ứng lượng nitơ là : 2 – 4 – 6 – 8 – 10 – 12 – 14 – 16 – 18 – 20 ($x10^{-3}$mgN).

Cho nước cất đến khoảng 40ml, thêm 8ml thuốc thử Griss rồi định mức đến vạch, lắc đều rồi so màu.

– *Hóa chất :*

Dung dịch $NaNO_2$ tiêu chuẩn : 0,4927g $NaNO_2$ khan hòa thành 1000ml được dung dịch 0,1mg N/ml. Lấy 10 ml dung dịch này pha thành 1000ml được dung dịch nồng độ 1.10^{-3}mg N/ml.

Thuốc thử Grit (Griss) : Hòa 150ml axit axetic đậm đặc (99%) với 350ml nước cất + hòa tan 0,1 gam α – naptilamin và 0,3g axit sunphanilic.

– *Ghi chú :* Phương pháp này có độ nhạy cao, phát hiện được những lượng NO_2^- rất nhỏ trong dung dịch, nhưng màu không bền, cần so màu trong vòng 1 giờ.

g) Xác định khả năng nitrat hóa của đất (Theo Krapkop). Hầu hết nitơ của đất (khoảng 99%) ở dạng hữu cơ (trong chất mùn, cơ thể vi sinh vật, xác thực vật), một phần nhỏ ở dạng khoáng (gần 1%).

Nitơ hữu cơ dưới tác dụng của nấm, vi khuẩn bị phân giải (gọi là sự amôn hóa) thành nitơ ở dạng NH_4^+. Ở điều kiện thuận lợi (nhiệt độ thích hợp và thoáng khí) NH_4^+ bị biến đổi thành NO_3^- gọi là quá trình nitrat hóa. Nitrat hóa là một quá trình biến đổi nitơ có ý nghĩa về độ phì nhiêu của đất, cần lưu ý trong quá trình quản lí đất.

– *Nguyên lí phương pháp :* Nitrat hóa là một quá trình huy động (mobilization) nitơ ở trong đất cho dinh dưỡng cây trồng. Để định lượng khả năng nitrat hóa cần một thời gian nhất định (12 ngày đêm) và nhiệt độ thích hợp (28°C), độ ẩm thích hợp (60% dung lượng ẩm mao quản) và thoáng khí. Trong điều kiện đó quá trình nitrat hóa xảy ra, tách chiết NO_3^- và xác định NO_3^-. Khả năng nitrat hóa của đất được xác định trong trạng thái tự nhiên.

– *Trình tự phân tích :*

Trên đáy cốc xếp một lớp thủy tinh vụn, cắm một ống thủy tinh nhỏ từ đáy đến miệng cốc. Cân khối lượng bì toàn bộ (cốc + thủy tinh + ống) và ghi khối lượng bì. Cân 3 mẫu đất mỗi mẫu 100g (mẫu trung bình qua rây 1mm). Đồng thời cân 10g đất để xác định độ ẩm).

Một mẫu đất cho vào cốc, dùng tay nén nhẹ (cốc a).

Mẫu đất thứ hai cho vào bát sứ lớn, thêm 0,14g $(NH_4)_2SO_4$, trộn đều bằng thìa nhỏ và cho vào cốc đã chuẩn bị ở trên (cốc b), nén nhẹ.

Mẫu đất thứ ba cho vào bát sứ, thêm 0,14g $(NH_4)_2SO_4$ và 0,5g $CaCO_3$ trộn đều và cho vào cốc thứ 3 (cốc c), nén nhẹ.

Đặt cốc đựng đất lên cân và thêm nước cất (bằng pipet) đến khối lượng tương đương độ ẩm đã tính sau đó đặt cốc vào tủ ấm ở nhiệt độ 28°C và thêm nước định kì suốt trong thời gian ủ (12 ngày) theo khối lượng để giữ độ ẩm đất ổn định.

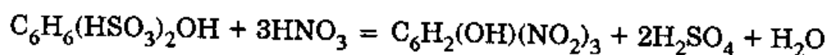
Chú ý là trước khi thí nghiệm phải xác định NO_3^- trong đất. Sau 12 ngày ủ xác định NO_3^- trong đất ủ.

Cân 50g đất ủ, cho vào bình 300ml, thêm 0,5g than hoạt tính đã nghiền nhỏ, thêm 250ml nước cất, lắc 5 phút, lọc qua giấy lọc dày (gạn phần nước đổ qua phễu, không nên chuyển hết đất lên phễu). Nếu như dung dịch lọc đục thì thêm 2ml dung dịch nhôm sunfat (13g muối hòa tan trong 100ml nước cất).

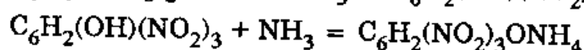
Lấy 50ml dịch lọc trong cho vào bát sứ hay cốc bay hơi cách thủy đến khô, thêm 1ml axit disunphophenic, khuấy đều bằng đũa thủy tinh.

Qua 10 phút sau khi thêm axit, thêm tiếp 20ml nước cất, lắc đều, trung hòa theo giấy quỳ bằng dung dịch kiềm 10% hay là NH_4OH 10%.

Cuối điểm trung hòa, nếu trong dung dịch chứa NO_3^- thì dung dịch có màu vàng không biến mất khi trộn đều bằng đũa thủy tinh, thêm 1 giọt kiềm và kết thúc sự trung hòa.



$$C_6H_6(HSO_3)_2OH + 3HNO_3 = C_6H_2(OH)(NO_2)_3 + 2H_2SO_4 + H_2O$$



$$C_6H_2(OH)(NO_2)_3 + NH_3 = C_6H_2(NO_2)_3ONH_4$$

màu vàng

Dung dịch màu vàng chuyển vào bình định mức, tráng bát sứ 3 - 5 lần bằng nước cất rồi đổ vào bình định mức và định mức tới vạch. Tiến hành so màu.

Đồng thời chuẩn bị thang màu tiêu chuẩn như phân tích mẫu.

– *Tính kết quả*

$$NO_3^- = \frac{a \cdot p \cdot 100 \cdot k}{n}$$

a : hàm lượng NO_3^- tra theo đồ thị (mg).

P : hệ số pha loãng.

k : hệ số độ ẩm đất.

n : khối lượng đất lấy phân tích.

– *Hóa chất :*

Dung dịch 10% KOH, NaOH hay NH_4OH.

Dung dịch NO_3^- tiêu chuẩn 0,01 mg NO_3^- / ml : Cân 0,1631g KNO_3 tinh khiết hòa tan trong nước cất và dẫn nước tới 1 lít. Lấy 100ml dung dịch này pha thành 1 lít (0,01mg NO_3^- trong 1ml).

2. Xác định photpho dễ tiêu

Photpho (lân) là nguyên tố dinh dưỡng quan trọng đối với cây trồng, song việc đánh giá P dễ tiêu luôn là vấn đề khó khăn do thành phần và sự biến đổi phức tạp của chúng ở trong đất. Trên thực tế cây trồng không chỉ sử dụng P ở dạng hòa tan trong dung dịch đất mà còn có cả những dạng photpho khó tan hơn. Vì vậy photpho dễ tiêu trong đất được quan niệm bao gồm những dạng hòa tan trong nước, trong axit hoặc bazơ yếu, có thể cung cấp ngay cho thực vật.

Hiện tại có nhiều phương pháp xác định photpho dễ tiêu chủ yếu là khác nhau về dung dịch chiết. Có 4 nhóm chính :

– Nhóm phương pháp sử dụng dung dịch chiết có độ axit cao, sử dụng các axit mạnh (H_2SO_4, HCl) có độ pH = 1. Điển hình như phương pháp Kiecxanop (HCl 0,2N), Oniani (H_2SO_4 0,1N). Các chất chiết rút axit mạnh có khả năng hòa tan nhiều

loại photpho trong đất : các photphat canxi, một phần photphat Fe, Al, thậm chí cả một phần photpho dạng apatit.

Nhóm phương pháp này thường được áp dụng ở các đất chua.

– Nhóm các phương pháp với chất chiết rút có độ chua nhẹ : Nhóm này gồm khá nhiều phương pháp với đặc điểm chung là dung dịch chiết rút có phản ứng axit yếu (pH = 3). Để ổn định pH người ta thường sử dụng các chất có tính đệm. Những phương pháp phổ biến của nhóm này là : phương pháp Tiricop (CH_3COOH 0,5N) ; phương pháp Egner Riehm (lactat Ca + HCl loãng, pH = 3,6) ; Morgan (dung dịch loãng axit yếu và muối của nó như $NaCOOCH_3$ + CH_3COOH có pH = 4,8) ; phương pháp Mehlich (H_2SO_4 0,025N + HCl 0,05N) ; phương pháp Truog (H_2SO_4 0,002N, pH = 3). Nhóm các phương pháp này cũng được sử dụng cho các đất axit là chính.

– Nhóm các phương pháp với chất chiết rút chứa các chất có khả năng tạo phức chất.

Đặc điểm chung của nhóm này là các dung dịch chiết rút có chứa các ion có khả năng tạo phức chất với các ion kim loại đã kết tủa photpho. Điển hình là các phương pháp Bray, Kurtz (phương pháp Bray 1 : NH_4F 0,03N + HCl 0,025N), phương pháp Bray 2 (NH_4F 0,03N + HCl 0,1N), phương pháp Xôcôlôp (NH_4F 0,1N), phương pháp Arrhenius (axit limonic 1%) và phương pháp dùng EDTA (Na_2 – EDTA 0,02N). Hầu hết các phương pháp nhóm này vừa sử dụng chất tạo phức, vừa trong môi trường axit nên có khả năng chiết rút nhiều dạng photpho trong đất và được xem là thích hợp với nhiều loại đất khác nhau.

– Nhóm các phương pháp với chất chiết rút có tính kiềm : Nhóm các phương pháp này gồm các chất chiết rút kiềm tính. Điển hình là : phương pháp Machigin $(NH_4)_2CO_3$ 1%, pH = 9 ; phương pháp Olsen ($NaHCO_3$ 0,5N, pH = 8,5). Do sử dụng chất chiết rút kiềm, chúng có tác dụng mạnh và chiết rút chủ yếu các photphat sắt, nhôm, một phần photpho hữu cơ. Nhóm phương pháp này thích hợp với cả đất axit hoặc kiềm.

Ngoài 4 nhóm chất chiết rút chính trên đây, người ta còn có thể xác định photpho dễ tiêu, dạng hòa tan trong nước (Watanabe và Olsen, 1962) hoặc trong dung dịch muối trung tính như KCl, NH_4Cl, NaCl 1N hoặc $CaCl_2$ 0,01M (Schoefield).

Việc lựa chọn các phương pháp với các chất chiết rút khác nhau có ý nghĩa quan trọng cho việc đánh giá dinh dưỡng photpho và phụ thuộc vào các loại đất và cây trồng. Đây vẫn còn là vấn đề tồn tại trong phân tích photpho dễ tiêu trong đất. Dưới đây sẽ trình bày một số phương pháp chính, đại diện cho các nhóm chất chiết rút khác nhau.

a) Xác định photpho dễ tiêu theo phương pháp Oniani (1964). Phương pháp Oniani sử dụng H_2SO_4 0,1N làm chất chiết rút photpho dễ tiêu trong đất. Sau đó dùng phương pháp hiện màu xanh molipđen để định lượng photpho.

Hiện nay phương pháp Oniani đang được áp dụng phổ biến ở nước ta.

– *Trình tự phân tích :*

4 gam đất đã qua rây 1mm lắc với 100ml H_2SO_4 0,1N trong 1 phút rồi lọc (dịch lọc phải trong suốt).

Lấy 10ml dịch lọc trên vào bình định mức 50ml.

Thêm khoảng 20ml nước cất, 2ml amoni molipđat 2,5% và 3 giọt $SnCl_2$ (2,5%). rồi định mức.

So màu trong vòng 15 phút.

– *Tính kết quả :*

$$P_2O_5 \text{ (mg/100g đất)} = \frac{C \cdot V \cdot V_2}{W \cdot V_1} \cdot 100$$

C : nồng độ so màu mg P_2O_5/ml.

V_1 : số ml dung dịch lấy so màu.

V_2 : thể tích hiện màu.

V : số ml dung dịch chiết rút mẫu.

W : lượng đất cân.

Hóa chất :

Amoni molipđat 2,5% : 25 gam amoni molipđat $(NH_4)_6Mo_7O_{24}$ hòa tan trong 200ml nước cất ở 60°C (dung dịch a).

Lấy 280ml H_2SO_4 đặc cho từ từ vào 500ml nước cất (dung dịch b).

Để nguội rồi đổ từ từ dung dịch b vào dung dịch a rồi bổ sung nước đến 1 lít. Bảo quản trong chai màu nâu.

$SnCl_2$: 2,5g $SnCl_2$ hòa tan trong 100ml HCl 10% (có thể đun nóng cho chóng tan).

H_2SO_4 0,1N : 2,8ml H_2SO_4 đặc hòa trong 1000ml nước cất.

Ghi chú :

Khi không có sẵn $SnCl_2$ có thể điều chế như sau : 2g thiếc kim loại hòa vào 30 – 40ml HCl đặc (d = 1,19) đun trên nồi cách thủy (có thể cho thêm $CuSO_4$ 4% cho chóng tan). Cô cạn rồi lại hòa tan bằng 10ml HCl 10%. Chất khử thu được có nồng độ 20%, có thể để lâu trong tủ lạnh. Trước khi dùng cần pha $SnCl_2$ đến 2,5% (2,5ml dung dịch $SnCl_2$ 20% + 10ml HCl 10% rồi thêm nước cất đến 25ml).

Có thể thay thế $SnCl_2$ bằng việc cho 1ml axit ascobic 1% (mới pha). Khi đó cần đun mẫu trên bếp cách cát đến sôi nhẹ. Để nguội rồi so màu :

Đánh giá lân theo Oniani :

5–10 mg P_2O_5 / 100g đất : đất nghèo lân.

10–15 mg P_2O_5 / 100g đất : đất trung bình.

trên 15mg P_2O_5 / 100g đất : đất giàu lân.

b) Xác định photpho dễ tiêu theo phương pháp Truog

– *Nguyên lí phương pháp.* Photpho dễ tiêu được chiết rút bằng dung dịch axit loãng H_2SO_4 0,002N (pH = 3), rồi dùng phương pháp so màu xanh molipđen để định lượng photpho.

Phương pháp này thích hợp cho các đất axit và đất trung tính, không phù hợp với đất cacbonat. Kết quả được đánh giá tốt hơn khi phân tích đất tươi.

- Trình tự phân tích :

5 gam đất đã qua rây 1mm lắc 30 phút với 100ml H_2SO_4 0,002N rồi lọc.

Lấy 10ml dịch lọc vào bình định mức 50ml. Thêm khoảng 20ml nước cất, 2ml amoni molipdat, 3 giọt $SnCl_2$, trộn đều rồi định mức đến vạch.

Để yên 10 phút rồi so màu với kính lọc màu đỏ (bước sóng 660nm), và không quá 20 phút từ lúc hiện màu.

- Hóa chất :

H_2SO_4 0,002 N (pH = 3) : pha loãng 100 lần dung dịch H_2SO_4 0,2N (5,6ml H_2SO_4 đặc pha thành 1000ml được H_2SO_4 0,2N).

Thêm vào 1 lít dung dịch H_2SO_4 0,002N 3 gam K_2SO_4 hoặc 3 gam $(NH_4)_2SO_4$.

Hóa chất khác và tính kết quả xem phương pháp Oniani.

$$P_2O_5(\text{mg/100g đất}) = \frac{C \cdot V \cdot V_2}{W \cdot V_1} \cdot 100$$

c) Xác định phôtpho dễ tiêu theo phương pháp Bray và Kurtz (Phương pháp Bray 1)

- Nguyên lí phương pháp. Phương pháp này sử dụng chất chiết có khả năng tạo phức (NH_4F) trong môi trường axit để chiết photpho dễ tiêu trong đất. Ion F^- tạo phức với ion Fe, Al thành các phức $FeF_3.3NH_4F$ là $AlF_3.3NH_4F$ vì vậy tách được photphat sắt, nhôm, tuy nhiên tách photphat canxi kém.

Phương pháp Bray 1 được xem là thích hợp cho đất axit, trung tính, không thích hợp với đất cacbonat, đất kiềm.

Photpho tách được trong dung dịch được xác định bằng phương pháp so màu.

- Trình tự phân tích :

2 gam đất lắc 1 phút với 14ml dung dịch HCl 0,025 + NH_4F 0,03N rồi lọc.

Lấy 2ml dịch lọc + 5ml nước cất + 2ml amoni molipdat + 1ml $SnCl_2$. Lắc đều rồi so màu sau 5 phút và trước 20 phút. Kính lọc màu có bước sóng 660 nm.

- Tính kết quả :

$$P_2O_5(\text{ppm}) = C \times 35$$

C là nồng độ dung dịch so màu (ppmP_2O_5).

- Hóa chất :

Dung dịch NH_4F 0,03N + HCl 0,025N.

NH_4F 1N : 3,7g NH_4F hòa trong nước cất đến 100ml (đựng trong bình nhựa).

HCl 0,5N : 20,2ml HCl đặc hòa thành 500ml bằng nước cất.

Trộn đều 30ml dung dịch a với 50ml dung dịch b rồi lên thể tích 1000ml được dung dịch NH_4F 0,03N + HCl 0,025N.

$SnCl_2$: Hòa tan 2g $SnCl_2.2H_2O$ trong 5ml HCl đặc rồi lên thể tích 100ml.

d) Xác định photpho dễ tiêu theo Olsen

- *Nguyên lí phương pháp :* Photpho dễ tiêu được chiết ra bằng dung dịch $NaHCO_3$ 0,5M (pH = 8,5), rồi dùng phương pháp so màu xanh molipđen để xác định P có mặt trong dung dịch.

Ở các đất đá vôi và đất kiềm có hàm lượng canxi cao, CO_3^{2-} có khả năng kết tủa Ca^{2+} làm tăng photpho hòa tan trong dung dịch. Ở các đất axit có nhiều photphat sắt, nhôm chúng có thể hòa tan trong môi trường kiềm.

Tuy nhiên do chất chiết rút kiềm tính nên chúng hòa tan một phần các chất hữu cơ làm cho dịch chiết thường có màu, do vậy phải khử màu trước khi hiện màu xanh molipđen.

- *Trình tự phân tích :*

5 gam đất + 1g than hoạt tính (không P) lắc với 100ml dung dịch $NaHCO_3$ 0,5M trong 30 phút rồi lọc.

Lấy 5ml dịch lọc vào bình định mức 25ml.

Cho vào 5ml amoni molipđat rồi lên thể tích đến 20ml.

Thêm 1ml $SnCl_2$ rồi định mức. So mà với kính lọc màu đỏ (660 nm) sau 10 phút.

- *Thang màu tiêu chuẩn :* Lấy tăng dần từ 2 đến 25 ($\times 10^{-3}$)mg P_2O_5 vào bình định mức 25ml. Cho vào mỗi bình 5ml $NaHCO_3$ 0,5M và làm như dung dịch mẫu.

- *Tính kết quả :* $P_2O_5(ppm) = C\dfrac{V \cdot V_2}{W \cdot V_1} \cdot 100$

C = nồng độ so màu (mg P_2O_5/ml) ; V = 100ml

V_1 = 5ml ; V_2 = 25ml ; W = 5g

Rút gọn có : $P_2O_5(ppm) = C.10^4$

- *Hóa chất :*

$NaHCO_3$ 0,5M : 42g $NaHCO_3$ hòa tan trong 1000ml nước cất. Dùng NaOH 1M để điều chỉnh pH = 8,5. Đựng trong bình nhựa dùng trong 1 tháng. Để lâu phải kiểm tra lại pH.

Than hoạt tính (carbon black) không P.

Amoni molipđat : 15g $(NH_4)_6Mo_7O_{24}.4H_2O$ hòa tan trong 300ml nước ấm. Thêm 342ml HCl đặc rồi lên thể tích đến 1000ml bằng nước cất.

$SnCl_2$: 2g $SnCl_2.2H_2O$ hòa tan trong 5ml HCl đặc, rồi cho 95ml nước cất. Pha trước khi dùng.

+ KH_2PO_4 tiêu chuẩn : 0,4393g KH_2PO_4 hòa thành 1000ml bằng nước cất được dung dịch KH_2PO_4 0,1mg P/ml. Lấy 20ml dịch này pha thành 1000ml được dung dịch 2.10^{-3}mg P/ml.

Ghi chú :

+ Nhiệt độ và thời gian lắc có ảnh hưởng đến kết quả phân tích.

+ Khi dùng than hoạt tính nên cho một lượng như nhau vào các mẫu đất rồi làm đối chứng để loại trừ khả năng than không sạch photpho. Cũng có thể cho than hoạt tính vào dịch lọc lắc rồi lọc lại nếu chúng có màu vàng.

– Đánh giá photpho dễ tiêu theo Olsen :

$<$ 5 ppm P : nghèo (đất thiếu photpho)

5–10 ppm P : trung bình (có thể thiếu photpho)

$>$ 10 ppm P : giàu (đủ photpho)

3. Xác định thành phần nhóm photphat khoáng

a) Phân tích các nhóm photpho theo phương pháp Triricop (1947)

– *Nguyên lí phương pháp.* Dựa vào khả năng hòa tan của các dạng photpho, Triricop đã chia photpho trong đất thành 5 nhóm khác nhau :

Nhóm 1 : Gồm các dạng photpho hòa tan trong dung dịch $H_2O + CO_2$ (0,05 – 0,06N) như : các photphat kiềm, amon, photphat axit của Ca, Mg[$Mg(H_2PO_4)_2$, $MgHPO_4$, $Ca(H_2PO_4)_2$, $CaHPO_4$], $Mg_3(PO_4)_2$ và một phần $Ca_3(PO_4)_2$.

Nhóm 2 : Photpho hòa tan trong CH_3COOH 0,5N, gồm $Ca_3(PO_4)_2$, một phần $CaX_2.3Ca_3(PO_4)_2$ và một phần $AlPO_4$, một phần phytin.

Nhóm 3 : Photpho hòa tan trong HCl 0,5N (hoặc H_2SO_4 0,5N), gồm apatit $CaX_2.3Ca_2(PO_4)_2$, $AlPO_4$, $FePO_4$ và phitin.

Nhóm 4 : Photpho hòa tan trong NH_4OH 3N, gồm các photpho – hữu cơ như nucleoproteit, nucleic, các hợp chất có kiểu như axit humic.

Nhóm 5 : Photpho không tan trong các dung môi trên gồm photphat titan, photpho của đá mẹ chưa bị phong hóa.

Trong 5 nhóm photphat trên, 3 nhóm đầu có ý nghĩa lớn với dinh dưỡng cây trồng. Chúng đều hòa tan trong HCl 0,5N (hoặc H_2SO_4 0,5N). Trong khi dung dịch CH_3COOH 0,5N chỉ có khả năng hòa tan photphat nhóm 1 và 2, còn dung dịch bão hòa CO_2 chỉ có thể chiết rút được các photphat nhóm 1. Dựa vào đặc điểm này, phương pháp Tiricôp sử dụng các dung dịch chiết rút trên tác động lên những phần mẫu đất khác nhau. Rồi dùng phương pháp hiệu số để tính ra từng nhóm photphat.

– *Trình tự phân tích :*

Chiết rút bằng HCl 0,5N (hoặc H_2SO_4 0,5N) – nhóm 1 + nhóm 2 + nhóm 3 :

4 gam đất lắc với 100ml HCl 0,5N trong 1 giờ. Để qua đêm rồi lọc.

Lấy 5ml dịch lọc vào bình định mức 50ml + 1 giọt chỉ thị màu β–đinitrophenol, dùng NH_4OH 10% trung hòa đến xuất hiện màu vàng. Lên thể tích đến 30ml.

Cho vào 2ml Amôni molipđat (trong H_2SO_4 10N), 3 giọt $SnCl_2$. Định mức rồi so màu (có thể thay $SnCl_2$ bằng 1ml axit ascobic 1%, rồi đun trên bếp cách cát đến vừa sôi) với kính lọc màu đỏ.

Chiết rút bằng CH_3COOH 0,5N (nhóm 1 và 2)

4g đất lắc với 100ml CH_3COOH 0,5N trong 1 giờ. Để qua đêm rồi lọc.

Lấy 10ml dịch lọc vào bình định mức 50ml rồi làm các thủ tục hiện màu như trên. So màu trên máy so màu quang điện.

Chiết rút bằng dung dịch bão hòa khí cacbonic (nhóm 1)

4g đất lắc với 100ml dung dịch bão hòa khí cacbonic (0,05 - 0,06N). Để yên qua đêm, lọc (nút kín bình khi lắc và khi để qua đêm).

Lấy 20ml dịch lọc vào bình định mức 50ml, thêm vào 2ml amoni molipđat 2,5% trong H_2SO_4 10N.

Thêm 3 giọt $SnCl_2$ (hoặc 1ml axit ascobic 1%) định mức, rồi so màu (khi dùng axit ascobic cần đun sôi trên bếp cách cát).

– *Tính kết quả :*

Tính photpho trong từng dung dịch chiết rút theo công thức chung (xem phần trên).

P - nhóm 1 = P chiết bằng dung dịch bão hòa CO_2

P - nhóm 2 = $P_{CH_3COOH0,5N} - P_{nhóm1}$.

P - nhóm 3 = $P_{HCl0,5N} - P_{CH_3COOH0,5N}$.

Đơn vị biểu diễn các nhóm photpho : mg P_2O_5 / 100g đất hoặc % so với photpho tổng số.

– *Hóa chất :*

HCl (hoặc H_2SO_4) 0,5N : 42ml HCl đặc (hoặc 14ml H_2SO_4 đặc) pha thành 1 lít.

CH_3COOH 0,5N : 28,5ml CH_3COOH đặc pha thành 1 lít.

NH_4OH 10% : 422ml NH_4OH đặc pha thành 1 lít

+ Amoni molipđat : xem phương pháp Oniani.

b) Phân tích các nhóm phôtpho theo phương pháp Chang, Jackson (1957)

– *Nguyên lí phương pháp :* Phương pháp Chang, Jackson đã được cải tiến nhiều lần bởi Askinadi, Ghimbuoc, Lebedep. Phương pháp Chang, Jackson xử lí trên cùng một mẫu đất lần lượt bằng các dung dịch khác nhau để tách các nhóm photphat : Phophat hòa tan và liên kết hờ (photphat di động), hòa tan trong NH_4Cl 1N, photphat nhôm tan trong NH_4F 0,5N, photphat sắt tan trong NaOH 0,1N, photphat canxi tan trong H_2SO_4 0,5N, photphat bị bao bọc do oxit sắt có thể bị khử (tan trong môi trường kiềm $NaHCO_3$ 1M sau khi khử bằng natrixitrat $Na_3C_6H_5O_7$ 0,3M + $Na_2S_2O_4$), photphat nhôm bị bao bọc (chiết bằng NH_4F 0,5N), và photphat không tan trong các dung môi trên (photphat sắt, nhôm bị bao bọc không bị khử, photphat hữu cơ).

Trên thực tế chỉ 4 nhóm photphat đầu có ý nghĩa lớn đối với dinh dưỡng cây trồng. Nên ở đây cũng trình bày phương pháp tách chiết 4 nhóm đó.

– *Trình tự phân tích :*

+ Tách photphat di động (chiết rút bằng NH_4Cl 1N) :

1g đất lắc 30 phút với 25ml NH_4Cl 1N trong ống nghiệm li tâm 50ml.

Li tâm trên máy trong 10 phút ở vận tốc 3000 vòng/phút.

Gạn hết nước vào bình khác (không được mất đất), rồi lấy 10ml dịch chiết này xác định P theo phương pháp so màu xanh molipđen.

+ Tách photphat nhôm (Al–P) bằng NH_4F 0,5N, pH = 8,5 :

Cho 25ml NH_4F 0,5N vào ống nghiệm li tâm chứa đất sau khi xử lí bằng NH_4Cl. Nút kín, lắc 1 giờ rồi li tâm như trên.

Gạn phần nước trong sang bình khác, dịch này cần cho vào 0,15 – 0,25g than hoạt tính không P lắc đều để yên 15–20 phút để khử màu.

Lọc vào bình polietilen (để tránh tác dụng hòa tan silic của F^- ảnh hưởng đến quá trình so màu). Dịch lọc này đem xác định P : Lấy 10ml dịch lọc vào bình định mức 50ml, thêm nước cất đến 2/3 bình + 10ml H_3BO_3 0,8M để liên kết với F^- ở dạng $NH_4[BF_4]$, rồi tiến hành hiện màu xanh molipđen.

+ Tách photphat sắt (Fe–P) bằng NaOH 0,1N :

Cho vào ống li tâm sau khi tách Al–P 25ml NaCl bão hòa, lắc 15 phút. Li tâm trên máy rồi gạn bỏ dịch chiết (để tách NH_4F dư)

Cho vào 25ml NaOH 0,1N, lắc 2 giờ. Để yên 18–20 giờ. Quay li tâm trên máy.

Rót nước trong sang bình khác, cho vào dịch chiết này 10 giọt H_2SO_4 đặc ; 0,15 – 0,25g than hoạt tính. Lắc đều rồi để yên 10–20 phút rồi lọc. Lấy 10ml dịch lọc vào bình định mức 50ml, thêm nước, trung hòa rồi đem hiện màu xác định photpho.

+ Tách photphat canxi (Ca–P) bằng H_2SO_4 0,5N :

Rửa đất sau khi xử lí bằng NaOH, bằng 25ml NaCl bão hòa như phần trên.

Cho vào 25ml H_2SO_4 0,5N rồi lắc 1 giờ li tâm như trên.

Rót phần nước trong ra, lấy 10ml để xác định photpho.

Kết quả xác định các nhóm photphat được biểu thị bằng mg P_2O_5/100g đất, hoặc % so với photpho tổng số.

– *Hóa chất :*

NH_4Cl 1N : 53,5g NH_4Cl pha với nước cất thành 1 lít.

NH_4F 0,5N : 18,5g NH_4F pha thành 1 lít.

H_2SO_4 0,5N : 14ml H_2SO_4 đặc pha vào nước cất rồi lên thể tích đến 1000ml.

NaCl bão hòa : 400g NaCl trong 1 lít nước cất.

H_3BO_3 0,8M : 50g H_3BO_3 pha thành 1 lít.

NaOH 0,1N : 0,4g NaOH pha trong 1 lít nước cất.

Than hoạt tính (không P), nếu có P thì rửa bằng dung dịch $(NH_4)_2CO_3$ vài lần, sau đó sấy khô rồi tán nhỏ để dùng.

4. Xác định khả năng hấp thụ photpho của đất

– *Nguyên lí phương pháp :* Khi tác động với đất bằng một dung dịch KH_2PO_4 đã biết trước nồng độ, một phần ion phôtphat bị đất hấp thụ dưới dạng trao đổi và không trao đổi (cố định). Trên cơ sở xác định lượng ion photphat còn lại trong dung dịch cân bằng để tính ra lượng phôtpho bị đất hấp thụ.

– *Trình tự phân tích :*

5gam đất qua rây 1mm lắc 15 phút với 25ml dung dịch KH_2PO_4 0,1mg P_2O_5/ml. Cho vào vài tinh thể K_2SO_4 (để tụ keo). Để qua đêm rồi lọc.

Lấy 1 – 5ml dịch lọc (tùy theo khả năng hấp thụ photpho của đất. Thông thường đất cát lấy 1ml, đất sét lấy 5ml) vào bình định mức 50ml. Cho vào 2ml amoni molipđat 3% trong axit H_2SO_4 10N, 1ml axit ascobic 1% mới pha. Định mức đốt trên bếp cách cát đến sôi. Để nguội rồi so màu.

– Thang chuẩn : Lấy 3 bình định mức 50ml cho vào 0,02 – 0,05 – 0,10 mg P_2O_5 (pha loãng 10 lần dung dịch KH_2PO_4 0,1mg P_2O_5/ml ; lấy vào mỗi bình 2 – 5 – 7ml dung dịch này). Rồi hiện màu như làm ở trên.

– *Tính kết quả :* lượng photpho hấp thụ bằng hiệu giữa lượng photpho cho vào và lượng photpho còn lại trong dung dịch cân bằng. Tính kết quả bằng mg/100g đất.

– *Hóa chất :*

KH_2PO_4 0,1mg P_2O_5/ml : 0,1917g KH_2PO_4 đã sấy khô ở 105°C pha thành 1000ml trong bình định mức.

Các hóa chất khác : xem ở phần xác định photpho.

– *Ghi chú :*

Thời gian lắc có ảnh hưởng lớn đến kết quả phân tích. Một số tác giả cho rằng lắc liên tục trong 2 giờ là bảo đảm đất bão hòa photpho.

Khả năng hấp thụ photpho ở các loại đất là rất khác nhau. Ở một số loại đất Việt Nam có độ hấp thụ photpho như sau :

Phù sa sông Hồng (ở Gia Lâm) :	21,0mg P_2O_5/100g đất	
Phù sa sông Hồng (ở Văn Điển) :	20,0	–
Chiêm trũng (Hà Tây) :	28,0	–
Chua mặn (Hải Phòng) :	25,0	–
Bạc màu (Bắc Giang) :	4,0	–
Bạc màu (Phú Thọ) :	1,0	mg P_2O_5/100g đất
Phù sa sông Mã (Thanh Hóa)	15,0	–
Bazan (Phủ Quỳ) :	37,0	–

5. Xác định kali dễ tiêu

a) Xác định kali dễ tiêu theo phương pháp Matlova (1934)

– *Nguyên lí phương pháp :* Nguyên lí chung của các phương pháp xác định kali dễ tiêu là dùng chất chiết rút thích hợp chiết kali thành dạng hòa tan (K^+), rồi định lượng K^+ theo các phương pháp khác nhau (quang kế ngọn lửa, hấp thụ nguyên tử, so độ đục).

Phương pháp Matlova sử dụng dung dịch CH_3COONH_4 1N là chất chiết rút.

– *Trình tự phân tích :*

5 gam đất (qua rây 1mm) lắc 1 giờ với 50ml dung dịch CH_3COONH_4 1N rồi lọc.

Xác định kali bằng quang kế ngọn lửa.

– *Hóa chất :*

CH_3COONH_4 1N : 77 gam CH_3COONH_4 pha trong nước cất đến 1000ml. Dùng NH_4OH hoặc CH_3COOH để chỉnh cho pH = 7.

Dung dịch KCl tiêu chuẩn : 1,584 gam KCl khan pha thành 1000ml bằng dung dịch CH_3COONH_4 1N.

Thang kali dùng khi đo trên máy : Lấy 5 bình định mức 100ml, cho vào từ 0 đến 10ml dung dịch KCl tiêu chuẩn (1mg K_2O/ml), thêm amoni axetat (CH_3COONH_4 1N) đến 100ml.

– *Ghi chú :*

Trong hầu hết các đất, sử dụng CH_3COONH_4 có thể chiết rút được hầu hết kali dạng trao đổi (90–95%) nếu dùng trao đổi ion trong phễu Mehlich thì đạt tới 95–100% kali trao đổi.

Xác định kali dễ tiêu tốt nhất là với đất tươi mới lấy về. Các đất mặn có thể chiết rút kali dễ tiêu bằng nước cất.

Kết quả xác định kali dễ tiêu được biểu diễn bằng mg K_2O/100g đất hoặc ppm K.

– *Đánh giá theo Matlova* : Khi K_2O trong đất :

< 5mg / 100 g đất	rất nghèo
5–10mg/100 g đất	nghèo
10–15mg/100 g đất	trung bình
> 15mg/100g đất	khá

b) Xác định kali dễ tiêu theo Kiecxanop (1933)

– *Nguyên lí phương pháp.* Phương pháp Kiecxanop sử dụng chất chiết rút là HCl 0,2N, sau đó xác định kali bằng quang kế ngọn lửa.

Với chất chiết rút axit, có thể chiết rút được kali hòa tan trong dung dịch đất, kali trao đổi và một phần không trao đổi do bị cố định bởi khoáng sét. Do vậy thông thường nó chiết rút được lượng kali nhiều hơn so với CH_3COONH_4 1N.

- *Trình tự phân tích :*

10 gam đất lắc với 50ml dung dịch HCl 0,2N, lắc 1 giờ, để yên 1 giờ rồi lọc. Xác định kali trong dịch lọc bằng quang kế ngọn lửa.

- *Hóa chất :* xem mục a.

- *Đánh giá kali dễ tiêu theo Kiecxanop*

< 4mg	K_2O/100g đất	rất nghèo
4–8 mg	–	nghèo
8–14 mg	–	trung bình
> 14 mg	–	khá

c) Xác định kali dễ tiêu theo phương pháp Pâyve

Phương pháp Pâyve sử dụng dung dịch NaCl 1N để chiết rút kali dễ tiêu.

- *Trình tự phân tích :*

25 gam đất (qua rây 1mm) lắc 5 phút với 50ml NaCl 1N rồi lọc.

Dịch lọc đem xác định kali bằng quang kế ngọn lửa.

- *Hóa chất :*

NaCl 1N : 58,5 gam NaCl pha với nước cất thành 100ml

Hóa chất khác, xem các phương pháp trên.

- *Đánh giá theo phương pháp Pâyve*

< 5mg	K_2O/100g đất :	rất nghèo
5–7mg	–	nghèo
7–10 mg	–	trung bình
10–15mg	–	khá
> 15mg	–	giàu

Chương 8

XÁC ĐỊNH CÁC HỢP CHẤT CỦA AXIT SILICIC VÀ CỦA CÁC OXIT HÓA TRỊ 3 DI ĐỘNG

Hàm lượng các dạng hợp chất của axit silicic và của các oxit hóa trị 3 di động, cũng như sự phân bố của chúng trong phẫu diện đất đặc trưng cho quá trình hình thành đất. Vì thế việc xác định các hợp chất này cùng với phân tích tổng số được xem như là phương pháp cơ bản để nghiên cứu về phát sinh của đất.

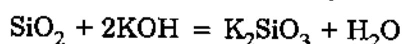
Người ta phân biệt dạng silicat và dạng không phải silicat. Dạng silicat là những oxit tham gia vào trong thành phần silicat trong các khoáng và đá. Dạng không phải

silicat là những oxit ở trạng thái tự do. Những oxit này có thể là tinh thể hoặc vô định hình.

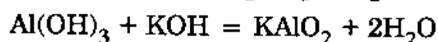
Dạng tinh thể của silic là thạch anh, của sắt là hetit $Fe_2O_3 . H_2O$, của nhôm là gipxit $Al_2O_3 . 3H_2O$. Trong đất krasnozem và đất laterit, các oxit hóa trị 3 nằm chủ yếu ở dạng tinh thể còn trong đất potzon ở dạng vô định hình. Kết von của đất potzon rừng và solot được cấu tạo từ dạng vô định hình của các hợp chất mà các oxit hóa trị 3 chiếm ưu thế. Dạng vô định hình hoạt động hơn và thường được gọi là dạng di động. Hàm lượng dạng di động của axit silicic trong đất được xác định theo phương pháp Ghedroi, dạng di động của các oxit hóa trị 3 được xác định theo phương pháp của Tamm.

1. Xác định dạng di động của axit silicic theo K.K. Ghedroi

– *Nguyên lí phương pháp :* Phương pháp dựa trên sự tạo thành kali metasilicat và kali aluminat tan khi cho đất tác dụng với dung dịch KOH 5% :



$$SiO_2 + 2KOH = K_2SiO_3 + H_2O$$



$$Al(OH)_3 + KOH = KAlO_2 + 2H_2O$$

Sắt chuyển vào dung dịch chiết rút kiềm với lượng nhỏ, có lẽ do sự hòa tan của các humat của chúng.

Xác định hàm lượng SiO_2 và Al_2O_3 trong dung dịch chiết rút nhận được rồi tính toán các dữ kiện nhận được theo K.K Ghedroi. Sự tích lũy silic vượt quá lượng tương ứng với công thức của caolin $2SiO_2 . Al_2O_3$ chứng tỏ trong đất có axit silicic di động.

– *Trình tự phân tích.* Cân 5 gam đất đã rây qua rây 1mm cho vào trong cốc 200 – 250 ml ; thêm vào cốc 100ml dung dịch KOH 5% không chứa K_2CO_3. Đậy cốc bằng kính đồng hồ rồi đặt lên trên bếp cách thủy sôi mạnh. Đun 30 phút tính từ khi nhiệt độ trong cốc là 92 – 96°C. Để xác định nhiệt độ trong cốc, người ta đặt một cốc khác bên trong có chứa 100ml KOH 5% và một nhiệt kế lên trên bếp cách thủy. Trong quá trình đun, cứ sau 10 phút, lại khuấy cẩn thận lượng chứa trong cốc. Cốc với dung dịch KOH không có đất được dùng làm thí nghiệm kiểm tra độ tinh khiết của thuốc thử.

Sau khi đun xong (qua 30 phút), pha loãng lượng chứa trong cốc bằng nước cất để giảm bớt nồng độ kiềm, lọc dung dịch qua giấy lọc. Trước khi lọc cần lắc mạnh cốc để đất được chuyển hoàn toàn lên trên giấy lọc. Để nhận được dung dịch lọc trong suốt cần phải lọc lại dung dịch một vài lần, bởi vì ngay cả những vết đục nhỏ cũng làm cho kết quả xác định axit silicic tăng lên.

Sau khi lọc xong, tiến hành chưng dịch lọc trên bếp cách thủy bằng bát sứ đường kính 12cm. Rửa cuống phễu lọc, sau đó rửa đất 10 – 12 lần bằng dung dịch KOH 0,5% sôi đến khi dịch lọc chảy ra trong suốt. Dung dịch này được gộp vào dung dịch đã chứa trong bát sứ trên bếp cách thủy.

Axit hóa dung dịch bằng 20ml HCl đặc và chưng dung dịch trên bếp cách thủy đến khô. Vì trong dung dịch lọc thường chứa một lượng chất hữu cơ nên trước khi kết thúc quá trình chưng khô người ta thêm vào 10ml HNO_3 đặc. Xử lí phần khô

2 – 3 lần bằng dung dịch H_2O_2 30%. Khi đó cần đậy bát sứ bằng kính đồng hồ. Sau khi kết thúc quá trình này, dùng nước rửa kính đồng hồ để không bị mất dịch phân tích do bị bắn.

Làm ướt phần khô sau khi đã phá hủy chất hữu cơ 2 – 3 lần bằng HCl đặc, mỗi lần đều chưng dung dịch trong chén đến khô trên bếp cách thủy ; sau khi đã hết mùi HCl, silic đã chuyển hoàn toàn sang dạng $SiO_2.H_2O$.

Tách SiO_2 từ dung dịch bằng phương pháp HCl : Kết tủa sau khi đã được rửa ban đầu bằng HCl 1% nóng và sau đó bằng nước nóng để tách hết ion Cl^- được nung đến khối lượng không đổi. Từ khối lượng SiO_2 trong dung dịch phân tích và thí nghiệm kiểm tra độ tinh khiết của thuốc thử sẽ tính ra hàm lượng phần trăm của axit silicic bằng cách lấy khối lượng thực tế nhân với 20 (vì chỉ lấy 5g đất phân tích).

Tiến hành xác định oxit hóa trị 3 trong dung dịch lọc từ axit silicic bằng một phương pháp nào đó như phương pháp amoniac hay phương pháp complecxon. Trong đa số trường hợp lượng này là nhôm oxit tinh khiết có thể có màu vàng chanh nhạt của sắt hóa trị 3. Từ kết quả của thí nghiệm đối với dung dịch phân tích và thí nghiệm kiểm tra tính được hàm lượng phần trăm Al_2O_3.

Hàm lượng axit silicic tính theo K.K. Ghedroi như sau :

Ví dụ : Trong dung dịch chiết rút tìm thấy hàm lượng SiO_2 là 1,33%, Al_2O_3 là 0,79%. Lấy giá trị hàm lượng SiO_2 chia cho 120 (2 lần phân tử gam SiO_2) và hàm lượng Al_2O_3 chia cho 102 (1 phân tử gam Al_2O_3) ta có :

$$1,33 : 120 = 0,011 \; ; \; 0,79 : 102 = 0,0078$$

Nếu hai giá trị nhận được bằng nhau, điều đó có nghĩa là toàn bộ lượng axit silicic và oxit nhôm chiết ra từ đất hoàn toàn liên kết ở dạng 2 SiO_2. Al_2O_3 nghĩa là trong đất không có axit silicic tự do và cũng không có nhôm oxit tự do. Nếu lượng axit silicic cao hơn lượng Al_2O_3 thì trong đất có lượng axit silicic tự do là 0,011 – 0,008 = 0,003 đương lượng. Tính theo phần trăm, giá trị này bằng 0,003.120 = 0,36% (SiO_2).

Khi giá trị của axit silicic nhỏ hơn giá trị của Al_2O_3 thì lượng di động hay lượng tự do sẽ là nhôm oxit. Hàm lượng phần trăm của Al_2O_3 được tính bằng cách nhân hiệu số giữa giá trị của nhôm oxit và giá trị của axit silicic với 102.

– *Hóa chất :* Dung dịch KOH 5% : Cân 50g KOH rồi hòa tan nhanh trong nước cất không có CO_2 để được KOH không có K_2CO_3, pha loãng đến 1 lít. Dung dịch được đậy kín. Dung dịch này thường bị bẩn axit silicic vì vậy cần phải kiểm tra độ tinh khiết của thuốc thử như đã nêu ở trên.

2. Xác định các oxit hóa trị 3 di động theo Tamm

– *Nguyên lí phương pháp.* Khi xử lí đất bằng dung dịch amoni oxalat pH = 3,2 các keo hiđroxit sắt và hiđroxit nhôm sẽ chuyển vào trong dung dịch .

Dung dịch này cho phép xác định hàm lượng của các keo của oxit hóa trị 3 trong đất. Đối với các đất cacbonat phương pháp được sử dụng sau khi phá hủy cacbonat bằng dung dịch axit axetic 2%.

– *Trình tự phân tích.* Cân 2g đất đã rây qua rây 1 mm trên cân phân tích, cho vào bình tam giác 250ml. Thêm vào bình 100ml thuốc thử Tamm rồi lắc bình trên máy lắc 1 giờ.

Lọc dung dịch huyền phù qua giấy lọc khô. Phần dung dịch lọc ban đầu có thể đục vì thế cần lọc lại một vài lần đến khi dung dịch trong suốt.

Chưng dung dịch lọc trên bếp cách thủy trong bát sứ đến khô. Giấy lọc cùng với đất lại cho vào bình tam giác ban đầu và rót vào 100ml thuốc thử Tamm, lắc 1 giờ.

Lọc dịch chiết lần hai qua giấy lọc khô và dùng nước đã axit hóa bằng axit oxalic để rửa đất trên giấy lọc. Nếu mẫu phân tích giàu keo vô cơ cần tiến hành chiết lần thứ ba.

Dung dịch lọc của lần chiết thứ hai và thứ ba được gộp lại và chưng đến khô trên bếp cách thủy.

Cần chú ý là thể tích dung dịch cần chưng chiếm không quá nửa thể tích của bát sứ để tránh hiện tượng "rào" (miệng bát sứ nên bôi một lớp mỏng vazơlin).

Sau khi nung xong, tiến hành phá hủy axit oxalic. Muốn vậy, cần xử lí phần khô trong chén 3 lần bằng nước cường thủy hoặc bằng HNO_3 với H_2O_2. Có thể chỉ sử dụng axit HNO_3, khi đó cần đun chén trên bếp cách cát. Thuận lợi hơn là phá hủy axit oxalic bằng cách chưng phần khô trong lò nung ở nhiệt độ 450 – 500°C.

Rót vào phần khô trong chén 2 – 3ml HCl (d = 1,19) và sau đó là 20 – 30ml nước cất nóng, lọc dung dịch vào bình định mức dung tích 100 – 200 ml. Rửa phần axit silicic còn lại trên giấy lọc bằng dung dịch HCl 1% nóng và nếu cần xác định hàm lượng SiO_2 thì đem nung nóng rồi cân. Thêm nước cất vào phần dịch lọc ở trong bình định mức đến vạch mức, lắc đều rồi lấy thể tích nhất định để xác định sắt oxit và nhôm oxit.

Hàm lượng các oxit di động được tính theo phần trăm đất khô.

Có thể xác định sắt trong dung dịch chiết rút oxalat mà không cần chưng dung dịch lọc bằng cách gộp dung dịch các lần chiết lại và chuyển vào bình định mức 200ml. Lấy 20ml dung dịch này cho vào trong cốc dung tích 100 – 150ml. Thêm 10ml dung dịch H_2SO_4 10% và đun nóng đến 80°C.

Thêm dung dịch $KMnO_4$ 1N vào dung dịch nóng trên đến khi xuất hiện hợp chất $MnO(OH)_2$ màu nâu, thêm tiếp dung dịch $H_2C_2O_4$ 0,05N đến khi hòa tan hoàn toàn kết tủa $MnO(OH)_2$. Lại đun dung dịch đến 80°C rồi thêm dung dịch $KMnO_4$ 0,05N đến khi có màu hồng nhạt, mất màu sau 30 – 60 giây. Sau khi phá hủy lượng dư axit oxalic bằng permanganat, chuyển lượng chứa trong cốc vào bình định mức dung tích 100ml. Thêm vào 10ml dung dịch NH_4Cl 1,0N và 1–2ml α–dinitrophenol. Nếu có màu vàng thì làm mất màu bằng từng giọt H_2SO_4 hay HCl 10%, sau đó thêm amoniac 2,5% đến khi dung dịch có màu vàng nhạt để pH tương ứng bằng 2.

Thêm vào bình 5ml axit sunfosalixilic (pH = 2), thêm nước đến vạch mức rồi khuấy, lắc đều. Giữ yên 20 phút sau đó so màu hồng của dung dịch phân tích với màu của dung dịch chuẩn.

– *Hóa chất* :

Dung dịch Tamm : Hòa tan 31,5g axit oxalic và 62,1g amoni oxalat trong 2,5 lít nước. Giá trị pH của dung dịch bằng 3,2 – 3,3.

HCl (d = 1,19), kiểm tra sự có mặt của Fe^{3+}.

Dung dịch axit sunfosalixilic 25% với pH = 2, chỉnh tương tự như với dung dịch thí nghiệm.

α – đinitrophenol : dung dịch bão hòa trong nước.

NH_4Cl 1N.

3. Xác định các dạng khác nhau của sắt bằng phương pháp o–phenanthrolin

Sự có mặt của sắt (II) trong đất đặc trưng cho sự lầy hóa và sự phát triển của quá trình hóa lầy.

Một trong những thuốc thử chọn lọc đối với sắt (II) oxit là o–phenanthrolin (1,1 o–phenanthrolin) $C_{12}H_8N_2.H_2O$. Thuốc thử này tạo với các ion Fe^{2+} thành hợp chất phức màu đỏ – da cam bền $[Fe(C_{12}H_8N_2)_3]^{2+}$. Hệ số hấp thụ phân tử ε = 11000 tại λ = 508nm, điều này chứng tỏ độ nhạy cao của thuốc thử.

Phương pháp cũng sử dụng để xác định sắt (III) oxit sau khi đã khử Fe^{3+} đến Fe^{2+} bằng hidroxylamin hay bằng chất khử nào đó. Tỉ lệ các oxit cho phép ta nhận định về các điều kiện háo khí hay yếm khí trong đất, đó là những điều kiện đặc trưng cho các quá trình oxi hóa – khử xảy ra trong đất.

Xác định các dạng sắt khác nhau có một ý nghĩa lớn khi nghiên cứu động học theo mùa của các quá trình tạo thành đất. Để chiết rút sắt trong trường hợp này người ta sử dụng H_2SO_4 0,1N (tỉ lệ đất : dung dịch là 1 : 10) lắc 5 phút. Trong những nghiên cứu về phát sinh người ta sử dụng H_2SO_4 1,0N cũng với tỉ lệ 1 : 10 như trên nhưng phải lắc 2 giờ.

4. Xác định sắt (II) oxit trong dung dịch chiết rút H_2SO_4 0,1N

Để xác định sắt (II) oxit người ta sử dụng đất tươi ngay sau khi lấy mẫu đất về mà không phơi khô. Đồng thời lấy mẫu để xác định độ ẩm của đất.

Lấy 5g đất cho vào bình tam giác 250ml, rót vào bình 50ml H_2SO_4 0,1N, lắc 5 phút và lọc dung dịch qua giấy lọc khô vào trong bình khô.

Thử hàm lượng sắt (II) oxit : Trước khi lấy mẫu để xác định Fe^{2+}, cần thử hàm lượng Fe^{2+} trong dung dịch lọc : lấy 1 – 2ml dung dịch lọc cho vào ống nghiệm rót vào đây 1ml dung dịch natri axetat và 1 giọt dung dịch o–phenanthrolin. Lắc đều ống nghiệm và theo cường độ màu đỏ – da cam của dung dịch mà quyết định lượng dung dịch lọc cần lấy.

– *Trình tự phân tích :* Lấy phần dung dịch lọc có hàm lượng Fe^{2+} trong khoảng 0,01 – 0,1mg cho vào bình định mức 25 – 50 – 100ml (tùy thuộc vào hàm lượng sắt (II) oxit)

Thêm vào 1 ml NaF 1%, lắc đều, thêm tiếp 1 ml dung dịch H_3BO_3 1% và 1 – 2 giọt thimol xanh. Trung hòa bằng dung dịch axetat đến khi dung dịch có màu vàng,

sau đó thêm 1ml dung dịch o-phenanthrolin 0,5%, lắc đều thêm nước đến vạch mức, lắc đều.

Giữ yên dung dịch 10 phút để màu phát triển hoàn toàn sau đó đo mật độ quang của dung dịch trên máy tại bước sóng 508nm.

– *Hóa chất :*

Dung dịch NaF 1%.

Dung dịch H_3BO_3 1%.

Dung dịch o-phenanthrolin 0,5% : Hòa tan 0,5g o-phenanthrolin khi đun nhẹ trong 100ml nước cất đã axit hóa nhẹ bằng H_2SO_4 hay hòa tan trong H_2SO_4 0,1N.

Dung dịch natri axetat $CH_3COONa.\ 3H_2O$ 10%.

Chỉ thị thimol xanh 0,04% trong rượu etilic.

Dung dịch chuẩn gốc : Cân trên cân phân tích 0,5462g tinh thể muối Morh màu xanh lá cây, hòa tan trong 500ml H_2SO_4 0,1N trong bình định mức 1 lít. Thêm nước cất đến vạch mức được dung dịch chứa 0,1mg FeO trong 1 ml.

Dung dịch chuẩn sử dụng chứa 0,01 mg FeO/ml pha loãng dung dịch chuẩn gốc 10 lần.

Thang chuẩn có hàm lượng FeO trong khoảng 0,01 – 0,1 mg trong thể tích của bình định mức (mỗi bình cách nhau 0,02mg).

– *Chú thích :* Trong trường hợp kết quả không tính theo oxit mà tính theo nguyên tố thì để được dung dịch chuẩn có hàm lượng Fe^{2+} là 0,1mg/ml thì cần hòa tan 0,7022g muối Morh trong 1 lít H_2SO_4 0,1N.

5. Xác định sắt (III) oxit

Sắt (III) oxit được xác định theo hiệu số giữa hàm lượng sắt tổng số và hàm lượng sắt (II) oxit ở trong dung dịch. Trong trường hợp nếu dung dịch chuẩn gốc tính theo hàm lượng FeO thì lấy hiệu số thu được nhân với hệ số 1,11 để chuyển từ FeO sang Fe_2O_3.

– *Ví dụ :* Để xác định các dạng sắt ta lấy 5g đất tươi. Hệ số để chuyển từ đất tươi ra đất khô k = 1,15. Thể tích dung dịch lọc lấy để xác định sắt tổng số và sắt (II) oxit là 10ml. Lượng sắt (II) oxit tìm thấy theo đường chuẩn là 0,018mg. Như vậy hàm lượng FeO sẽ là :

$$\frac{0{,}018.50.100.1{,}15}{10.5} = 2{,}07\text{mg FeO/100g đất}$$

Lượng sắt tổng số tìm thấy là 0,098mg, như vậy hàm lượng tổng số là :

$$\frac{0{,}098.50.100.1{,}15}{10.5} = 11{,}27\text{mg FeO/100g đất}$$

Hàm lượng sắt (III) oxit sẽ bằng :

$$(11{,}27 - 2{,}07).1{,}11 = 10{,}21\text{mg } Fe_2O_3\text{/100g đất}$$

- *Chú thích :*

Phức màu của hợp chất giữa sắt (II) và o-phenanthrolin tạo thành trong khoảng pH của dung dịch từ 2 - 9 nghĩa là trong môi trường axit yếu, trung tính và kiềm yếu.

Khi dùng các dung dịch axit để chiết sắt ra khỏi đất ngoài sắt (II) oxit cũng còn có nhiều sắt (III) oxit. Khi đó, để xác định sắt (II) oxit cần đưa NaF vào dung dịch để liên kết Fe^{3+} dưới dạng phức không màu, lượng dư ion F^- được liên kết bằng axit boric. Giảm pH của dung dịch đến pH = 2,8 - 3,0 bằng cách dùng dung dịch natri axetat để trung hòa theo chỉ thị thimol xanh. Ion axetat ổn định sắt (II) oxit. Nếu khi trung hòa trong dung dịch có xuất hiện đục thì cần tăng lượng chất tạo phức lên.

Khi thêm phenanthrolin, quá trình tạo phức màu xảy ra nhanh. Khi xác định sắt (II) oxit tiến hành đo mật độ quang sau khi hiện màu 10 phút (để lâu hơn, mật độ quang của dung dịch sẽ tăng lên). Khi xác định sắt tổng số cần phải giữ 1 giờ để đảm bảo Fe^{3+} được khử hoàn toàn.

6. Xác định sắt tự do

- Có thể chiết sắt và nhôm tự do bằng hỗn hợp đithionit + oxalat :

Cân 0,5g mẫu cho vào ống nghiệm li tâm 50ml. Thêm vào 0,5g $Na_2S_2O_4$ và 20ml thuốc thử Tamm. Đặt ống nghiệm vào nồi cách thủy ở 85°C và đun trong 20 phút, cứ 5 phút lại lắc đều ống một lần. Li tâm rồi gạn lấy dung dịch qua giấy lọc vào bình định mức 100ml. Lặp lại quá trình chiết hai lần. Rửa và li tâm phần mẫu còn lại trong ống hai lần, mỗi lần bằng 12,5ml NaCl bão hòa (350g NaCl trong 1 lít) và chuyển toàn bộ vào bình định mức nói trên. Thêm nước đến vạch mức, lắc đều. Đồng thời tiến hành thí nghiệm trắng.

Lấy 5ml dung dịch mẫu cho vào bình Kenđan 50ml, thêm 5 ml nước cường thủy và đun nhẹ trong dụng cụ phân hủy mẫu đến khi hơi nitơ ngừng thoát ra. Để nguội rồi lại thêm 5ml nước cường thủy và đun cho đến khô. Lặp lại quá trình này một lần nữa. Để nguội, thêm vào 20ml nước và 1 ml HCl 4N, đun nhẹ 10 phút. Để nguội rồi chuyển vào bình định mức 50ml. Thêm nước đến vạch mức, lắc đều. Sau đó, xác định sắt trong dung dịch này bằng thuốc thử o-phenanthrolin sau khi khử Fe (III) xuống Fe (II) bằng một chất khử nào đó (ví dụ dung dịch hiđroxylamin 10%).

- Đối với đất ngập nước có thể chiết rút bằng hỗn hợp natri hiđrosunfit và EDTA : Cân 0,5 - 2,0g mẫu đất khô không khí cho vào bình tam giác 250ml. Thêm vào 3g natri hiđrosunfit và 100ml EDTA 0,02M. Đặt bình tam giác vào bình nước sôi và giữ ở 70°C trong 15 phút, thỉnh thoảng lắc đều. Lọc dung dịch nóng vào bình định mức 250ml. Chuyển đất lên trên giấy lọc và rửa đất 3 lần bằng dung dịch NaCl 1%. Định mức đến vạch mức bằng dung dịch NaCl 1% rồi lắc đều. Sau đó xác định sắt bằng quang phổ hấp thụ nguyên tử hoặc bằng phương pháp so màu với thuốc thử o-phenanthrolin.

7. Phân tích sắt dễ tiêu

Sắt là nguyên tố dinh dưỡng vi lượng vì vậy phương pháp xác định sắt dễ tiêu trong đất phải phản ánh được khả năng thực tế sắt có thể cung cấp cho cây trồng dưới dạng Fe^{2+} và phức sắt hòa tan.

Phương pháp Olson và carlson (1950)

Chiết rút sắt dễ tiêu trong đất bằng dung dịch amoni axetat 1M (pH = 4,8) tỉ lệ giữa đất và dung dịch chiết rút là 1 : 4 thời gian lắc : 30 phút. Dùng phương pháp so màu với o – phenanthrolin để định lượng sắt.

Cân 12,5g đất khô không khí vào bình tam giác, cho vào 50ml NH_4CH_3COO 1M lắc nhẹ 30 phút (đồng thời tiến hành mẫu trắng – không có đất) lọc.

Dùng pipét lấy 10ml dung dịch nước lọc, trong ống đựng dung dịch phân tích thêm 2ml hidroxylamin clorua, 2ml o-phenanthrolin ; ống đựng mẫu trắng thêm 2ml hidroxylamin clorua và 2ml nước.

Dung dịch chuẩn được xây dựng từ dung dịch chuẩn Fe có nồng độ 5 ppm.

Dùng pipét lấy 0 ; 2 ; 6 ; 10 ; 14 ; 18 dung dịch chuẩn cho vào bình định mức 50ml sau đó định mức đến 50ml bằng dung dịch NH_4CH_3COO 1M ta được các dung dịch có nồng độ 0,00 ; 0,25 ; 0,75 ; 1,25 ; 1,75 và 2,25 ppm Fe.

Sau đó lấy 10ml các dung dịch này và làm như mẫu thí nghiệm. Đo màu ở bước sóng 508nm.

Phương pháp Sherman – Jackson

Chiết rút sắt dễ tiêu trong đất bằng dung dịch chiết rút amoni axetat 1M (pH = 3,0) ; tỉ lệ giữa đất tươi và dung dịch chiết rút là 1 : 10, lắc 30 giây.

Lọc nhanh và rửa đất 3 lần, mỗi lần bằng 50ml dung dịch NH_4CH_3COO. Làm khô dung dịch mẫu trên nồi cách thủy rồi xử lí cặn bằng 10ml hỗn hợp HCl : HNO_3 (4 : 1) và làm khô để loại các vết chất hữu cơ. Hòa tan cặn khô bằng 1ml HCl 1M và định mức đến 100ml bằng nước cất. Lấy một thể tích xác định dung dịch rồi định lượng sắt bằng phương pháp so màu với o-phenanthrolin. Pha dung dịch NH_4CH_3COO 1M, dùng HCl hay NH_4OH để chỉnh pH.

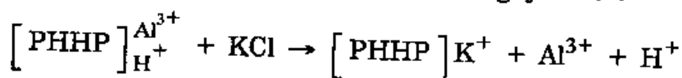
Chương 9

XÁC ĐỊNH CÁC TÍNH CHẤT HÓA LÍ CỦA ĐẤT

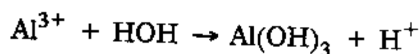
1. Đất chua và độ chua của đất

Độ chua là yếu tố độ phì quan trọng của đất, nó ảnh hưởng đến các quá trình lí hóa và sinh học trong đất và có tác động đến cây trồng. Đa số cây trồng thích ứng ở đất trung tính (pH từ 6 đến 7) ; một số có thể chịu đất chua như chè (pH từ 4,5 đến 5,5) khoai tây (pH từ 4,8 đến 5,4).

Đất chua là do có mặt các ion H^+ và Al^{3+} trong dung dịch đất cũng như trong các phức hệ hấp phụ của đất có khả năng trao đổi gây nên :



$$\left[\text{PHHP}\right]^{Al^{3+}}_{H^+} + KCl \rightarrow \left[\text{PHHP}\right]K^+ + Al^{3+} + H^+$$



$$Al^{3+} + HOH \rightarrow Al(OH)_3 + H^+$$

Khả năng tạo thành H^+ và Al^{3+} càng lớn thì đất càng chua và ngược lại độ chua của đất phụ thuộc vào các phương pháp xác định, trong đó chất chiết rút có ý nghĩa lớn trong việc trao đổi các ion H^+ và Al^{3+}.

Trên cùng 1 loại đất, sử dụng chất chiết rút NaOH 0,01N (pH = 12) sẽ có độ chua lớn (19mgđl/100g đất) trong khi với $NaCH_3COO$ 1N (pH = 8,2) thì độ chua thấp hơn (6,0 mgđl/100g đất) ; và thấp nhất là khi tác động với đất bằng NaCl 1N (pH = 6,0, (độ chua xác định được là 0,2 mgđl/100g đất). Nguyên nhân là do anion OH^- có khả năng liên kết mạnh với H^+ (hằng số phân li của H_2O là 10^{-14}) trong khi liên kết của CH_3COO^- với H^+ là nhỏ hơn (hằng số phân li của CH_3COOH là $1{,}8.10^{-5}$), còn Cl^- hầu như không liên kết với H^+.

Độ chua của đất thông thường được chia làm 2 loại :

– *Độ chua hiện tại (độ chua hoạt tính)* là độ chua gây nên do các ion H^+ tự do trong dung dịch đất và được xác định khi tác động đất với nước cất và biểu thị bằng pH_{H_2O}.

– *Độ chua tiềm tàng* được xác định khi chiết rút đất bằng dung dịch muối. Dựa vào chất chiết rút, độ chua tiềm tàng lại được chia thành độ chua trao đổi và độ chua thủy phân :

+ Độ chua trao đổi : sử dụng chất chiết rút đất là các dung dịch muối trung tính như KCl, NaCl, $BaCl_2$. Các cation của các muối này đẩy H^+ và một phần Al^{3+} ra khỏi phức hệ hấp phụ, Al^{3+} bị thủy phân tạo thành độ chua của đất. Độ chua trao đổi là 1 chỉ số để xác định nhu cầu bón vôi cho đất.

+ Độ chua thủy phân : Độ chua của đất được xác định khi sử dụng chất chiết rút là một muối thủy phân (gồm gốc axit yếu và bazơ mạnh, như CH_3COONa). Thông thường độ chua thủy phân có trị số lớn hơn độ chua trao đổi. Vì lúc này gần như toàn bộ H^+ và Al^{3+} trao đổi đã được trao đổi ra ngoài dung dịch đất.

Độ chua thủy phân cũng thường được sử dụng để tính lượng vôi bón cải tạo đất chua. Theo nghiên cứu của Viện khoa học kĩ thuật Nông nghiệp thì đất lúa Việt Nam chỉ nên trung hòa 1/2 độ chua thủy phân là tốt nhất.

a) *Xác định pH bằng phương pháp cực chọn lọc hidro.* Hiện nay phương pháp đo pH trực tiếp trên máy (pH meter) đã được dùng phổ biến. Chúng vừa nhanh, chính xác và phạm vi pH xác định được rộng (pH : 1 – 9).

– *Nguyên lí phương pháp :* Ion H^+ được chiết rút ra bằng chất chiết rút thích hợp (nước cất hoặc muối trung tính), dùng 1 điện cực chỉ thị (điện cực chọn lọc hyđro) và 1 điện cực so sánh để xác định hiệu thế của dung dịch. Từ đó tính được pH của dung dịch.

Trong các loại pH meter, điện cực chỉ thị thường dùng là điện cực thủy tinh, điện cực so sánh là điện cực calomen.

– *Trình tự phân tích :*

Lắc 10 gam đất (đã qua rây 1mm) 15 phút trên máy lắc (hoặc lắc tay 30 phút) với 25ml KCl 1N (với pH_{KCl}) hoặc nước cất (pH_{H_2O}). Sau đó để yên 2 giờ (không quá 3 giờ), lắc 2, 3 lần, rồi đo pH ngay trong dung dịch huyền phù.

Hiệu chỉnh máy đo pH : Máy trước khi đo phải hiệu chỉnh bằng cách đo dung dịch đệm pH tiêu chuẩn. Chỉnh cho kim chỉ đúng trị số pH của dung dịch đệm.

Đo mẫu : Giữ cho điện cực cách mặt mẫu đất là 1cm, và ngập nước khoảng 2cm. Chờ 30 giây rồi đọc giá trị pH trên máy, độ chính xác là 0,1 đơn vị pH.

– *Ghi chú :* Điện cực thủy tinh được ngâm trong nước cất khi không dùng. Tỉ lệ đất và dịch chiết rút có khác nhau phụ thuộc phương pháp phân tích. Vì vậy trong kết quả phân tích cần ghi rõ tỉ lệ đất : dịch chiết rút và chất chiết rút. Ví dụ "pH trong KCl 1N – 1 : 5 W/V". Nghĩa là pH khi chiết rút bằng KCl 1N với tỉ lệ đất : dung dịch chiết rút là 1 : 5 (khối lượng / thể tích). Nếu không ghi chú gì thì thường được hiểu là pH_{H_2O} theo tỉ lệ đất nước là 2 : 5.

– *Pha dung dịch đệm tiêu chuẩn :*

Dung dịch $KHC_8H_4O_4$ 0,05 M : 10,21g $KHC_8H_4O_4$ pha thành 1000ml.

Hỗn hợp KH_2PO_4 + Na_2HPO_4 0,025M : 3,10g KH_2PO_4 pha thành 1000ml ; 3,55g Na_2HPO_4 pha thành 1000ml.

Trộn lẫn 2 dung dịch này thành 2 lít hỗn hợp. Thời hạn sử dụng không quá 2 tháng.

Dung dịch $Na_2B_4O_7$ 0,01M : 3,81g $Na_2B_4O_7.10H_2O$ pha thành 1000ml.

Dung dịch $KHC_4H_4O_6$ bão hòa : 6 gam $KHC_4H_4O_6$ trong 1 lít nước cất.

Các dung dịch trên pha xong đựng trong bình polietylen, thời hạn dùng không quá 3 tháng.

Trị số pH của các dung dịch đệm trên như sau :

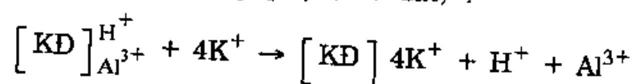
Nhiệt độ °C	$KHC_4H_4O_6$ bão hòa	$KHC_8H_4O_4$ 0,05M	KH_2PO_4 Na_2HPO_4 0,025M	$Na_2B_4O_7$ 0,01M
15°		4,00	6,90	9,27
20		4,00	6,88	9,22
25	3,56	4,00	6,86	9,18
30	3,55	4,01	6,85	9,14
35		4,02	6,84	9,10

Dựa vào độ chua trao đổi (pH_{KCl}), độ chua của đất được chia ra như sau :

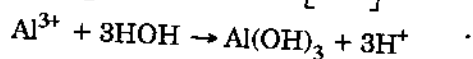
pH	4,5	5,0	5,5	6,0	
Xếp loại	rất chua	chua vừa	chua nhẹ	gần trung tính	trung tính

b) Xác định độ chua trao đổi theo phương pháp Đaicuhara

– *Nguyên lí phương pháp :* Sử dụng chất chiết rút KCl, ion K^+ sẽ đẩy H^+ và Al^{3+} trao đổi ra khỏi phức hệ hấp phụ (keo đất) :



$$\left[KĐ\right]^{H^+}_{Al^{3+}} + 4K^+ \rightarrow \left[KĐ\right] 4K^+ + H^+ + Al^{3+}$$



$$Al^{3+} + 3HOH \rightarrow Al(OH)_3 + 3H^+$$

Dùng NaOH tiêu chuẩn chuẩn H^+ tạo thành với chỉ thị màu phenolphtalein.

Nước chiết này có thể kết hợp đo pH_{KCl}, xác định nhôm di động (Al – trao đổi) và Ca, Mg trao đổi.

– *Trình tự phân tích :*

40 gam đất (đã qua rây 1mm) lắc 1 giờ với 100ml dung dịch KCl 1N (hoặc lắc vài phút rồi để yên một ngày), sau đó tiến hành lọc.

Lấy 50ml dịch lọc + 3 giọt phenolphtalein rồi chuẩn bằng NaOH 0,02N tiêu chuẩn đến xuất hiện màu hồng không biến mất trong vòng 1 phút.

– *Tính kết quả :*

$$H_{tđ} \text{ (mgđl/100gđất)} = \frac{V.N.K}{W} . 100$$

$H_{tđ}$: độ chua trao đổi.

V : số ml NaOH chuẩn độ mẫu.

N : nồng độ đương lượng của NaOH (0,02N).

W : lượng đất đem phân tích (40 gam).

K : hệ số pha loãng ($\frac{100}{50} = 2$)

Rút gọn có : $H_{tđ}$ (mgđl/100gđ) = V × 0,1

– *Hóa chất :*

NaOH 0,02N : Lấy 200ml NaOH 0,1N pha thành 1000ml trong bình định mức. Dùng axit chuẩn (H_2SO_4 0,02N) kiểm tra lại nồng độ.

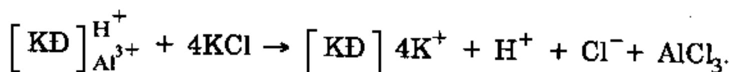
Phenolphtalein 0,1% : 0,1g phenolphtalein hòa tan trong 60ml rượu etylic rồi pha thành 100ml bằng nước cất.

KCl 1N : 75g KCl pha thành 1 lít.

– *Ghi chú :* Độ chua trao đổi xác định bằng chuẩn độ chỉ áp dụng ở đất chua. Khi đất có pH_{KCl} > 7,5 sẽ không xác định được vì phenolphtalein tạo thành màu hồng ngay trong dung dịch mẫu.

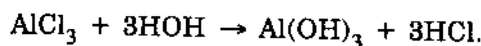
c) Xác định H^+ và Al^{3+} trao đổi theo phương pháp Xôcôlôp (1939)

– *Nguyên lí phương pháp :* Khi tác động với đất bằng dung dịch muối trung tính (KCl chẳng hạn) thì đồng thời cả H^+ và Al^{3+} trao đổi đều được đẩy ra khỏi tầng hấp phụ trao đổi của keo đất :



$$\left[KĐ \right]^{H^+}_{Al^{3+}} + 4KCl \rightarrow \left[KĐ \right] 4K^+ + H^+ + Cl^- + AlCl_3.$$

Khi đó $AlCl_3$ lại bị thủy phân tạo thành H^+ :

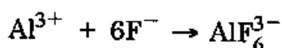


$$AlCl_3 + 3HOH \rightarrow Al(OH)_3 + 3HCl.$$

Từ 1 ion Al^{3+} thủy phân sẽ tạo thành 3 ion H^+. Như vậy thực chất khi chuẩn độ xác định độ chua trao đổi đã bao gồm cả H^+ trao đổi, H^+ tự do trong dung dịch đất, H^+ được tạo thành do Al^{3+} thủy phân. Nếu biết H^+ trao đổi (được gọi chung cho cả H^+ tự do), thì Al^{3+} trao đổi được xác định theo công thức :

Al^{3+} trao đổi = Độ chua trao đổi − H^+ trao đổi.

Xôcôlôp sử dụng NaF để liên kết với Al^{3+}, sẽ xác định được riêng H^+ trao đổi :



$$Al^{3+} + 6F^- \rightarrow AlF_6^{3-}$$

Lúc này trong dung dịch chỉ còn H^+ tự do, dùng phương pháp chuẩn độ để xác định chúng. Thông thường Al^{3+} di động tồn tại ở điều kiện $pH_{KCl} < 5,5$. Do vậy Al^{3+} chỉ có ý nghĩa lớn ở các đất chua, và được xác định cùng với khi xác định độ chua trao đổi.

– *Trình tự phân tích :*

100 gam đất lắc với 250ml KCl 1N trong 1 giờ rồi lọc.

Xác định độ trao đổi : Lấy 50ml dịch lọc vào bình tam giác 250ml, đun sôi 5 phút, cho vào 2 giọt phenolphtalein, để nguội rồi chuẩn với NaOH 0,02N tiêu chuẩn đến màu hồng bền vững (trong 1 phút).

Xác định H^+ trao đổi (gồm H^+ trao đổi và H^+ có sẵn trong dung dịch đất).

Lấy 50ml dịch lọc trên vào bình tam giác 250ml, đun sôi 5 phút, cho vào 5ml NaF 3,5%, để nguội, cho vào 2 giọt chỉ thị phenolphtalein, dùng NaOH 0,02N tiêu chuẩn chuẩn đến màu hồng.

– *Tính kết quả :*

$$\text{Độ chua trao đổi (mgđl/100gđất)} = \frac{V_1 . N . K}{W} . 100 = V_1 . 0,1$$

$$H^+ \text{ trao đổi (mgđl/100gđ)} = \frac{V_2 . N . K}{W} . 100 = V_2 . 0,1$$

$$Al^{3+} \text{ trao đổi (mgđl/100gđ)} = \frac{(V_1 - V_2) . N . K}{W} . 100 = (V_1 - V_2) . 0,1$$

hay : Al^{3+} trao đổi = Độ chua trao đổi − H^+ trao đổi

V_1 : số ml NaOH chuẩn độ mẫu không có NaF

V_2 : số ml NaOH chuẩn độ mẫu có NaF

N : nồng độ đương lượng của NaOH (0,02N)

W : lượng đất cân (100 g)

K : hệ số pha loãng ($\frac{250}{50} = 5$).

Al^{3+} thường được biểu thị bằng mg/100g đất. Lấy kết quả mgđl/100gđất × 9, hoặc

$$Al^{3+}\ (mg/100gđất) = \frac{(V_1 - V_2)N \cdot K \cdot 9}{W} \cdot 100$$

– *Hóa chất :*

NaOH 0,02N tiêu chuẩn.

KCl 1N : 75g KCl pha thành 1 lít.

Phenolphtalein 0,1% : 0,1 gam phenolphtalein pha trong rượu etylic 100ml.

NaF 3,5% : 3,5g NaF pha trong nước cất 100ml. NaF pha xong phải chỉnh pH đến trung tính.

– *Ghi chú :*

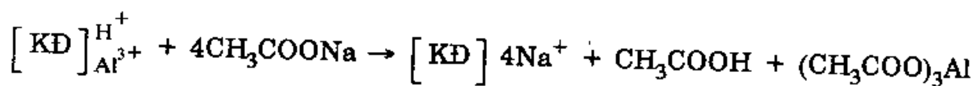
Khi cho đều lượng NaF như nhau vào mẫu, có thể làm đối chứng để khử H^+ tự do trong dung dịch NaF.

Thực tế lượng NaF cho vào có thể không cố định, phụ thuộc vào lượng Al^{3+}. Lượng 5ml NaF chỉ đủ tác dụng với 1,80 mgđl Al^{3+} là tốt nhất. Khi Al^{3+} lớn hơn 6,3 mgđl/100gđất thì sẽ không đủ. Có thể tính lượng NaF 3,5% cần thiết :

$$NaF\ 3{,}5\%\ (ml) = \frac{V_{NaOH} \cdot N_{NaOH} \cdot 2}{0{,}85}$$

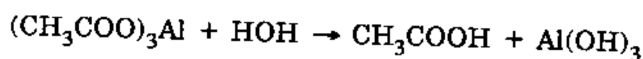
d) Xác định độ chua thủy phân theo phương pháp Kappen

– *Nguyên lí phương pháp :* Dùng 1 muối kiềm mạnh axit yếu (thường là CH_3COONa) để trao đổi H^+ và Al^{3+} từ keo đất :



$$\left[KĐ\right]^{H^+}_{Al^{3+}} + 4CH_3COONa \rightarrow \left[KĐ\right] 4Na^+ + CH_3COOH + (CH_3COO)_3Al$$

Ngoài tác dụng trao đổi của Na^+, ion CH_3COO^- có khả năng liên kết với H^+ và Al^{3+} làm tăng cường quá trình trao đổi. Do vậy kết quả trao đổi sẽ triệt để hơn dùng muối trung tính (ở độ chua trao đổi). Quá trình thủy phân của $(CH_3COO)_3Al$ làm tăng H^+ trong dung dịch :



$$(CH_3COO)_3Al + HOH \rightarrow CH_3COOH + Al(OH)_3$$

Chuẩn độ trực tiếp lượng H^+ tạo thành bằng dung dịch NaOH sẽ được độ chua thủy phân. Độ chua thủy phân được biểu thị bằng mgđl/100g đất (me/100g đất).

– *Trình tự phân tích :*

40g đất (đã qua rây 1mm) lắc với 100ml dung dịch CH_3COONa 1N (pH = 8,2) trong 1 giờ rồi lọc.

Lấy 50ml dịch lọc + 2 giọt phenolphtalein rồi chuẩn bằng NaOH 0,02N tới màu hồng (bền trong 1 phút).

– *Tính kết quả :*

$$H_{tf}\ (mgđl/100gđất) = \frac{V \cdot N \cdot 1{,}75 \cdot K}{W} \cdot 100$$

V : thể tích (ml) NaOH chuẩn độ

N : nồng độ đương lượng NaOH (0,02N)

K : hệ số pha loãng ($\frac{100}{50} = 2$)

W : khối lượng đất (40g).

1,75 : dùng CH_3COONa trao đổi 1 lần không triệt để. Muốn trao đổi hoàn toàn H^+, Al^{3+} cần lặp lại nhiều lần, như vậy mất thời gian và phức tạp. Qua thực nghiệm đã cho thấy nhân với hệ số 1,75 là thích hợp (hệ số thực nghiệm).

H_{tf} : độ chua thủy phân (mgđl/100gđất).

Rút gọn : H_{tf} (mgđl/100gđất) = V.0,175

– *Hóa chất :*

CH_3COONa 1N (pH = 8,2) : 136,1g $CH_3COONa.3H_2O$ hòa bằng nước cất đến 1 lít. Điều chỉnh cho pH = 8,2 (vừa làm đổi màu chỉ thị phenolphtalein).

Hóa chất khác : xem xác định độ chua trao đổi ở trên.

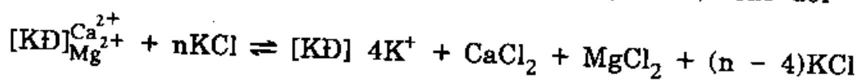
– *Ghi chú :* Độ chua thủy phân thường được sử dụng để tính độ no bazơ của đất và tính lượng vôi bón (Theo nghiên cứu của Viện khoa học kĩ thuật nông nghiệp, với đất lúa ở nước ta chỉ cần trung hòa 1/2 độ chua thủy phân). Nếu lấy độ sâu cần trung hòa là 20cm, tỉ trọng trung bình của đất là 1,5 thì lượng vôi (CaO) cần bón để trung hòa 1/2 độ chua thủy phân sẽ là :

$$CaO \text{ (tấn/ha)} = 0,42.H_{tf}$$

(trong đó H_{tf} tính theo mgđl/100g đất).

2. Xác định canxi, magie trao đổi bằng trilon B

– *Nguyên lí phương pháp :* Ca^{2+}, Mg^{2+} trao đổi trong đất được dùng chất chiết rút thích hợp (thường là các muối trung tính như KCl, NaCl) trao đổi :



$$[KĐ]^{Ca^{2+}}_{Mg^{2+}} + nKCl \rightleftharpoons [KĐ]\ 4K^+ + CaCl_2 + MgCl_2 + (n-4)KCl$$

Dùng trilon B (EDTA) chuẩn độ xác định Ca^{2+} và Mg^{2+}

– *Trình tự phân tích :*

20 gam đất (qua rây 1mm) lắc với 100ml KCl 1N trong 1 giờ, rồi lọc.

Lấy vào 2 bình tam giác 150ml, mỗi bình 25ml dịch lọc, để xác định tổng $Ca^{2+} + Mg^{2+}$ và riêng Ca^{2+}. Cho vào mỗi bình 2ml Na_2S 1%, 5 giọt hiđroxylamin (hoặc vài tinh thể).

Xác định tổng $Ca^{2+} + Mg^{2+}$:

Từ bình 1 : Thêm 5ml dung dịch đệm $NH_4Cl + NH_4OH$ để duy trì pH khoảng 10. Cho 1 giọt chỉ thị màu cromogen đen, dung dịch có màu đỏ anh đào. Dùng trilon B 0,05N chuẩn đến màu xanh.

Xác định riêng Ca^{2+} :

Từ bình 2, thêm 2ml KOH hay NaOH 10% để đưa pH lên 12. Cho vào 1 ít murexit (sao cho dung dịch có màu hồng). Dùng trilon B 0,05N chuẩn đến màu tím hoa cà.

– *Tính kết quả :*

$$Ca^{2+} + Mg^{2+} \text{ (mgđl/100gđất)} = \frac{V.N.K}{W}.100.$$

Rút gọn : $Ca^{2+} + Mg^{2+}$ (mgđl/100gđất) = V

V : số ml EDTA (trilon B) chuẩn độ mẫu

N : nồng độ đương lượng trilon B (0,05N)

K : hệ số pha loãng (4)

W : lượng đất cân (20g).

Tính riêng Ca^{2+} trao đổi cũng giống như trên, thay V là số ml trilon B chuẩn Ca^{2+}. Lượng Mg^{2+} trao đổi = tổng ($Ca^{2+} + Mg^{2+}$) trao đổi – Ca^{2+} trao đổi.

– *Hóa chất :*

KCl 1N : 74,5g KCl hòa thành 1 lít.

Trilon B 0,05N : 9,305g hòa tan trong 1000ml nước cất (trong bình định mức).

Dung dịch đệm $NH_4OH + NH_4Cl$: 20g NH_4Cl hòa tan trong 500ml nước cất. Thêm 100ml NH_4OH 25% rồi lên thể tích 1 lít.

NaOH (hoặc KOH) 10% : 50g hòa thành 500ml.

Chỉ thị cromogen đen : 0,2g hòa tan trong cồn 96° đến 100ml, hoặc hỗn hợp với NaCl tinh khiết theo tỉ lệ 1 : 200.

Chỉ thị murexit : 5g murexit trộn với 50g NaCl tinh khiết.

Hydroxylamin 1% : 1g $NH_2OH.HCl$ trong 100ml nước cất.

Na_2S 1% pha trong nước cất.

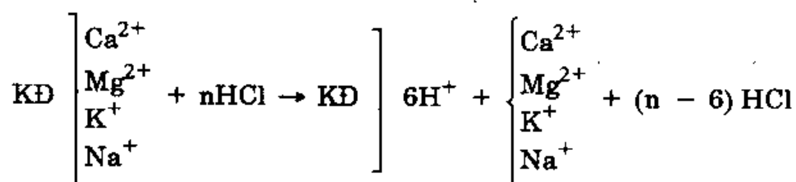
– *Ghi chú :*

Hiđroxylamin và Na_2S cho vào để khử Mn và Cu. Với đất không mặn hoặc ít sắt có thể không cần thiết.

Ca^{2+}, Mg^{2+} trao đổi có thể xác định từ các dịch trao đổi trong các phương pháp xác định dung tích trao đổi cation được trình bày ở các phần sau.

3. Xác định tổng lượng kiềm trao đổi theo phương pháp Kappen – Ghincovich

– *Nguyên lí phương pháp :* Dùng H^+ của dung dịch HCl 0,1N trao đổi các cation kiềm trong đất theo sơ đồ :



Lượng H^+ dư (của HCl) trong dung dịch được chuẩn bằng NaOH tiêu chuẩn. Hiệu giữa H^+ trước và sau phản ứng trao đổi chính là lượng kiềm trao đổi.

– *Trình tự phân tích :*

10gam đất lắc 1 giờ với 50ml HCl 0,1N. Để yên 14 – 16 giờ (qua đêm) rồi lọc (bỏ phần nước lọc đục ban đầu).

Lấy 25ml dịch lọc + 2 giọt phenolphtalein rồi chuẩn bằng NaOH 0,1N tiêu chuẩn đến màu hồng bền trong 1 phút (V_2). Đồng thời lấy 25ml dung dịch HCl 0,1N dùng để trao đổi chuẩn bằng NaOH 0,1N với chỉ thị phenolphtalien (V_1).

– *Tính kết quả :*

$$S = \frac{(V_1 - V_2)N \cdot K}{W} \cdot 100 \text{ (mgđl/100gđất)}$$

S : kiềm trao đổi (mgđl/100gđất)

V_1 : số ml NaOH 0,1N chuẩn 25ml HCl 0,1N

V_2 : số ml NaOH 0,1N chuẩn độ mẫu

N : nồng độ của NaOH (0,1N)

K : hệ số pha loãng ($\frac{50}{25} = 2$)

W : lượng đất cân (10g).

Rút gọn : $S = \frac{(V_1 - V_2) \cdot 0,1 \cdot 2}{10} \cdot 100 = (V_1 - V_2) \cdot 2$ (mgđl/100gđất)

– *Hóa chất :*

HCl 0,1N.

NaOH 0,1N.

Phenolphtalein 0,1%.

– *Ghi chú :* Xác định tổng lượng kiềm trao đổi theo phương pháp này có ưu điểm là nhanh, đơn giản, nhưng chỉ cho kết quả gần đúng. Muốn chính xác phải xác định riêng từng cation rồi cộng tổng số.

Tính độ no bazơ của đất. Độ no bazơ là tỉ số giữa cation kiềm trao đổi trên tổng dung tích hấp phụ trao đổi của đất. Tổng các cation trao đổi được chia ra 2 nhóm : nhóm bazơ (Ca^{2+}, Mg^{2+}, ...) và nhóm chua (H^+, Al^{3+}). Khi nhóm các ion kiềm giảm và nhóm chua tăng thì độ no bazơ giảm. Độ no bazơ là chỉ tiêu quan trọng của đất và được xem như chỉ số xác định mức độ bón vôi.

Độ no bazơ được tính theo công thức :

$$V(\%) = \frac{S}{S + H} \cdot 100$$

V : độ no bazơ (%).

S : tổng cation kiềm trao đổi, có thể xác định nhanh theo phương pháp Kappen – Ghincovich, tính theo mgđl/100gđất.

H : độ chua thủy phân (mgđl/100gđất).

Dựa vào độ no bazơ, nhu cầu bón vôi được xác định theo 3 mức :

Cần ưu tiên bón vôi khi độ no bazơ dưới 50%.

Có thể bón vôi (phụ thuộc pH_{KCl}) khi độ no bazơ từ 50 đến 70%.

Không cần bón vôi khi độ no bazơ trên 70%.

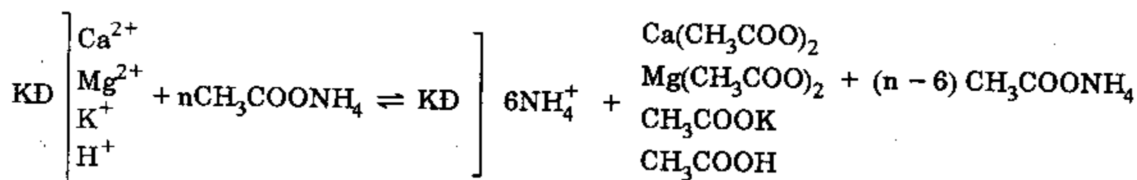
Tuy nhiên nhu cầu bón vôi còn tùy thuộc loại đất và loại cây trồng cụ thể.

4. Xác định dung tích trao đổi cation của đất

Dung tích trao đổi cation của đất hay khả năng trao đổi cation (CEC – cation exchange capacity) là lượng ion lớn nhất được đất hấp phụ có khả năng trao đổi và được biểu thị bằng mgđl/100g đất. Đây chính là quá trình hấp phụ lí hóa học được thực hiện nhờ keo đất. Cần phân biệt quá trình trao đổi cation (do keo âm đảm nhận) với trao đổi anion (do keo dương đảm nhận). Dưới đây chỉ đề cập đến việc xác định dung tích trao đổi cation.

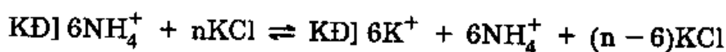
Xác định dung tích trao đổi cation theo phương pháp amoniaxetat (phương pháp Schachtschabel)

– *Nguyên lí phương pháp :* Dùng CH_3COONH_4 1N làm bão hòa dung tích hấp phụ trao đổi cation của đất. Phản ứng trao đổi như sau :



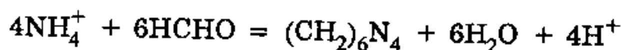
$$KĐ\left]\begin{matrix} Ca^{2+} \\ Mg^{2+} \\ K^{+} \\ H^{+} \end{matrix}\right. + nCH_3COONH_4 \rightleftharpoons KĐ\left]\, 6NH_4^+ \right] + \begin{matrix} Ca(CH_3COO)_2 \\ Mg(CH_3COO)_2 \\ CH_3COOK \\ CH_3COOH \end{matrix} + (n-6)\,CH_3COONH_4$$

Sau đó cation NH_4^+ đã hấp phụ được trao đổi ra bằng cation K^+ (KCl 0,1N) :



$$KĐ]\,6NH_4^+ + nKCl \rightleftharpoons KĐ]\,6K^+ + 6NH_4^+ + (n-6)KCl$$

Lượng NH_4^+ trao đổi này được xác định bằng chuẩn độ bằng NaOH 0,1N với sự có mặt của focmalin (HCHO) :



$$4NH_4^+ + 6HCHO = (CH_2)_6N_4 + 6H_2O + 4H^+$$

(hecxametilentetramin)

Với $4NH_4^+$ sẽ giải phóng $4H^+$. Do vậy dựa vào lượng NaOH tiêu tốn mà tính được lượng NH_4^+ hay lượng cation trao đổi.

- *Trình tự phân tích*

10gam đất (qua rây 1mm) cho vào phễu Mehlich đã chuẩn bị sẵn (hình 29).

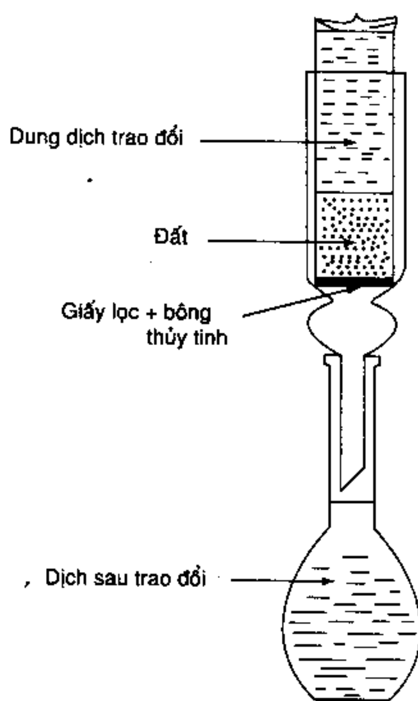
Dùng 100ml CH_3COONH_4 1N (pH = 7) chia 10 lần (10ml × 10 lần) để bão hòa đất bằng NH_4^+.

Rửa đất 3 lần bằng rượu etylic (15ml × 3 lần).

Dịch trao đổi để xác định thành phần cation trao đổi (Ca^{2+}, Mg^{2+}, Al^{3+}, K^+, ...) nếu cần thiết.

Chuyển toàn bộ phễu và đất sang bình định mức 250ml, rồi dùng 250ml KCl 0,1N trao đổi (25ml × 10 lần) lên thể tích đến 250ml.

Lấy 25ml dịch trao đổi này + 10ml focmalin 20% trung tính + 5 giọt phenolphtalein, rồi chuẩn bằng NaOH 0,05N tiêu chuẩn đến màu hồng nhạt (bền trong 1 phút).



Hình 29 – Phễu Mehlich để trao đổi ion

- *Tính kết quả :*

$$CEC = \frac{V \cdot N \cdot K}{W} \cdot 100$$

CEC : dung tích trao đổi cation (mgđl/100gđất)

V : thể tích NaOH chuẩn độ (ml)

N : nồng độ NaOH chuẩn độ (0,05N)

W : lượng đất cân (10g)

K : hệ số pha loãng $\left(\frac{250}{25} = 10\right)$.

Rút gọn : E (mgđl/100gđất) = V.5

- *Hóa chất :*

CH_3COONH_4 1N : 77g CH_3COONH_4 pha thành 1 lít bằng nước cất (dùng NH_4OH hoặc CH_3COOH điều chỉnh cho pH = 7).

KCl 0,1N : 7,5g KCl pha thành 1 lít.

Focmalin 20% : pha từ focmalin thông dụng (khoảng 38%. Sau đó trung hòa bằng NaOH 0,05N với chỉ thị phenolphtalein.

Phenolphtalein 0,1% (pha trong rượu, cồn).

NaOH 0,05N tiêu chuẩn.

– *Ghi chú :*

Phương pháp dùng CH_3COONH_4 được dùng phổ biến nhưng phù hợp nhất với đất trung tính và không cacbonat. Nó cũng được sử dụng ở các đất chua nhẹ.

NH_4^+ có thể bị giữ chặt bởi các khoáng sét 1 : 1 (kaolinit) và mùn nên khó thu lại được. Do vậy ở đất nhiều khoáng sét, kết quả có thể thấp hơn thực tế.

Lượng đất cân có thể thay đổi phụ thuộc đất. Thông thường ở đất thành phần cơ giới nặng có thể cân 5 gam đất + 5 gam cát sạch (đã được xử lí bằng H_2SO_4 đặc) để tăng cường tốc độ lọc.

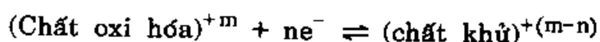
Có thể làm chuẩn độ trắng với focmalin (đối chứng) để loại trừ H^+ chưa được trung hòa. Kết quả xác định mẫu phải trừ đi lượng chuẩn độ này (nếu có).

5. Xác định thế oxi hóa – khử của đất

Trong dung dịch đất có chứa nhiều nguyên tố có thể thay đổi hóa trị theo điều kiện môi trường. Các phản ứng oxi hóa – khử xảy ra không ngừng và phản ánh trạng thái của đất.

Quá trình oxi hóa – khử có ảnh hưởng lớn đến các tính chất đất và trạng thái các chất dinh dưỡng. Trong điều kiện khử mạnh có thể hình thành các chất độc hại cho cây trồng. Trên thực tế, thế oxi hóa – khử là một yếu tố quan trọng về phát sinh học đất.

– *Nguyên lí phương pháp :* Phản ứng oxi hóa – khử trong đất được khái quát bằng phương trình sau :



(Chất oxi hóa)$^{+m}$ + ne$^-$ $\rightleftharpoons$ (chất khử)$^{+(m-n)}$

Bản chất của phản ứng oxi hóa – khử là sự thu, nhường electron. Do vậy có thể dùng điện cực đặc biệt để đo các electron chuyển dời này. Điện cực này được gọi là điện cực oxi hóa – khử. Eo của một số hệ oxi hóa – khử như sau :

E_o của một số hệ oxi hóa – khử :

Hệ oxi hóa – khử	Phản ứng oxi hóa – khử	E_opH = 0 (mV)	E_opH = 7 (mV)
$O_2 - H_2O$	$O2 + 4H^+ + 4e^- \rightleftharpoons 2H_2O$	+1230	+820
$MnO_2 - Mn^{2+}$	$MnO_2 + 4H^+ + 2e^- \rightleftharpoons Mn^{2+} + 2H_2O$	+1230	+430
$Fe^{3+} - Fe^{2+}$	$Fe^{3+} + e^- \rightleftharpoons Fe^{2+}$	+770	+130
$SO_3^{2-} - S^{2-}$	$SO_3^{2-} + 3H_2O + 6e^- \rightleftharpoons S^{2-} + 6OH^-$	−610	−200
$H^+ - H_2$	$2H^+ + 2e^- \rightleftharpoons H_2$	0,00	−414

Điện cực tiêu chuẩn thường dùng là điện cực calomen và điện cực hidro. Điện cực oxi hóa thường dùng là điện cực thủy tinh và điện cực platin. Từ điện thế đo được (E_h) đọc trên mV kế (milivon kế) và điện cực calomen không đổi ta tính được E_h của đất.

Điện thế (E) của điện cực calomen ở các nhiệt độ khác nhau.

Nhiệt độ (°C)	E (mV)	Nhiệt độ (°C)	E (mV)	Nhiệt độ (°C)	E (mV)
0	260	18	248	30	240
5	257	20	247	35	237
10	254	22	246	40	234
12	252	24	244	45	231
14	251	26	243	50	227
16	250	28	242	-	-

– *Trình tự phân tích :*

Chuẩn bị dung dịch xác định : 20 gam đất tươi mới lấy về khuấy đều với 100ml nước cất trong cốc (hoặc bình rộng miệng), rồi đặt vào giá máy pH metre.

Chuẩn bị máy đo : Với từng máy đều có cách hướng dẫn sử dụng cụ thể : Tuy nhiên thường theo một số bước sau :

Nối máy vào nguồn điện thích hợp (với máy dùng điện xoay chiều), hoặc lắp pin (với máy dùng pin).

Để máy ổn định trong 5 – 10 phút. Lắp điện cực vào máy. Hiệu chỉnh máy và đưa về các thông số cần thiết. Chọn "mode" để đo mV với các máy phải lựa chọn.

Tiến hành đo :

Nhúng điện cực ngập trong dung dịch cần đo (thông thường mặt dưới của điện cực cách mặt lớp đất khoảng 1cm).

Để kim (với máy dùng vonkế) ổn định, hoặc số xuất hiện (với máy đọc bằng số) ổn định ở quanh 1 giá trị nào đó. Ghi trị số đọc được.

Hiện nay với các máy đo Eh, chỉ cần chỉnh máy về giá trị 0, số đọc được chính là giá trị Eh của đất (được biểu thị bằng mV).

Khi đo xong dùng nước cất rửa sạch điện cực rồi dùng giấy lọc thấm khô trước khi đo mẫu khác.

Chương 10

XÁC ĐỊNH CÁC CHẤT HÒA TAN TRONG NƯỚC CỦA ĐẤT

Các chất hòa tan trong nước của đất bao gồm các chất hữu cơ và vô cơ. Chúng có thể được tách chiết một cách dễ dàng bằng nước cất.

Việc xác định các chất hòa tan trong nước của đất có ý nghĩa quan trọng, đặc biệt là các đất mặn. Chúng được sử dụng trong việc đánh giá đất và phân loại đất...

1. Chuẩn bị nước chiết

Dùng nước cất không CO_2 để tách chiết các chất hòa tan của đất. Tỉ lệ đất, nước sử dụng có khác nhau, thường dùng là 1 : 5. Sau khi lắc đều với thời gian xác định

đem lọc. Các đất chua và trung tính thì có thể dùng giấy lọc thường. Nhưng đối với đất mặn, kiềm thì phải dùng phương pháp lọc chân không bằng bông thủy tinh mới bảo đảm lọc trong suốt (sau khi lọc xong phải dùng nước cất rửa 4 - 5 lần cho hết CO_3^{2-} và HCO_3^- còn lại trong bông thủy tinh). Dung dịch lọc dùng để xác định các chất hòa tan. Thông thường bao gồm :

- Tổng lượng muối tan : thường dùng phương pháp khối lượng (sấy khô rồi cân), đo độ dẫn điện, phương pháp tỉ trọng kế.

- Xác định cacbonat (CO_3^{2-}) và bicacbonat (HCO_3^-) theo phương pháp chuẩn độ trung hòa.

- Xác định Cl^- bằng chuẩn độ bằng $AgNO_3$.

- Xác định SO_4^{2-} bằng phương pháp trilon B, phương pháp khối lượng, phương pháp dùng baricromat.

- Xác định Ca^{2+}, Mg^{2+} bằng trilon B.

- Xác định K^+, Na^+ bằng quang kế ngọn lửa.

Ngoài ra tùy mục đích, có thể xác định thêm các chỉ tiêu cần thiết khác : pH_{H_2O}, chất hữu cơ hòa tan...

Chiết rút các chất hòa tan trong đất : Cân 100 gam đất (đã qua rây 1mm), lắc 3 phút với 300ml nước cất không chứa CO_2 (có tài liệu đề nghị lắc 1 giờ). Nếu đất chứa $CaSO_4$ thì sau khi lắc có thể để yên 6 giờ, các đất khác để yên trong 1 giờ. Sau đó đem lọc, bảo đảm dịch lọc phải trong. Trường hợp dịch lọc có màu (mà không cần xác định chất hữu cơ hòa tan) lắc chúng với than hoạt tính rồi lọc lại.

- Tỉ lệ đất : nước chiết và thời gian lắc có thể thay đổi. Thông thường, đất chủ yếu là muối clorua thì thời gian lắc và tỉ lệ đất : nước có thể nhỏ hơn. Trong khi có mặt nhiều muối sunphat thì đòi hỏi tỉ lệ đất : nước và thời gian lắc nhiều hơn.

- Trong quá trình lắc đất với nước, ở các đất có hàm lượng muối tan cao thì các cation (thậm chí cả anion) trong dịch chiết có thể trao đổi với phức hệ hấp phụ. Vì vậy ion chiết rút có thể không hoàn toàn là có sẵn trong dung dịch đất. Tuy nhiên trong phân tích ảnh hưởng này thường được bỏ qua.

2. Xác định tổng lượng muối tan trong nước

a) Phương pháp khối lượng. Dịch chiết đất bằng nước cất được đem sấy khô rồi cân.

- *Trình tự phân tích :*

50ml dịch lọc trên cho vào cốc đã biết khối lượng (W_1). Thông thường khối lượng cốc không quá 20g.

Chưng khô trên nồi cách thủy rồi cho vào 2ml H_2O_2 10 - 15%. Tiếp tục chưng khô, cho tiếp 2ml H_2O_2 10 - 15%... Lặp lại cho đến khi cặn có màu trắng (chất hữu cơ bị oxi hóa hết).

Sấy ở 105°C đến khối lượng không đổi (thường từ 2 đến 3 giờ). Lấy ra cho vào bình hút ẩm cho nguội. Cân khối lượng cốc và muối (W_2).

– *Tính kết quả :*

$$\text{Tổng muối tan (\%)} = \frac{(W_2 - W_1) . K}{W} . 100$$

Rút gọn : Tổng muối tan (%) = $(W_2 - W_1).10$

Trong đó : W_1 : khối lượng cốc (g)

W_2 : khối lượng cốc + muối tan (g)

K : hệ số pha loãng $\left(\frac{500}{50} = 10\right)$

W : lượng đất cân (100g).

– *Hóa chất :*

H_2O_2 10 – 15% : pha từ H_2O_2 đặc (30%).

b) Phương pháp đo độ dẫn điện

– *Nguyên lí phương pháp :* Độ dẫn điện của dung dịch tăng lên cùng với sự tăng nồng độ của các muối hòa tan. Nói cách khác, trị số nghịch đảo của độ dẫn điện này giảm dần khi nồng độ các muối tan tăng lên. Dùng một thang dung dịch chuẩn đã biết nồng độ muối tan của chúng để xác định những trị số nghịch đảo độ dẫn điện tương ứng, ta sẽ có đồ thị đường thẳng biểu diễn sự tương quan trên. Dựa vào kết quả đo trị số nghịch đảo độ dẫn điện của dung dịch chiết rút đất, trên cơ sở đồ thị của thang chuẩn có thể tính được hàm lượng muối tan.

– *Trình tự phân tích*

10 gam đất (qua rây 1 mm) lắc với 50ml nước cất trong 30 phút, để lắng vài giờ (hoặc qua đêm).

Gạn phần nước vào cốc để đo, cắm điện cực vào đo và đọc trị số đo được (sao cho mặt dưới điện cực cách mặt lớp đất vài milimet đến 1cm).

– *Xây dựng đồ thị chuẩn.* Hòa tan 9g NaCl với 1g Na_2SO_4 trong 1 lít dung dịch được nồng độ muối là 1%. Từ dung dịch này pha loãng thành dãy chuẩn có nồng độ 0,5 – 0,25 – 0,1 – 0,05 – 0,025 – 0,001%. Sau đó dùng máy xác định trị số nghịch đảo độ dẫn điện của chúng. Vẽ đồ thị (nên dùng log của chúng).

– *Ghi chú :*

+ Sự có mặt của các hạt đất sẽ ảnh hưởng đến độ dẫn điện. Một số tài liệu đề nghị đo độ dẫn điện của đất ở trạng thái sệt (không xác định trong dung dịch). Sự thay đổi thành phần cơ giới có ảnh hưởng đến điện trở. Vì vậy trị số đo được cần nhân với hệ số thực nghiệm.

Hiệu chỉnh điện trở theo thành phần cơ giới bằng hệ số thực nghiệm như sau :

Thành phần cơ giới	Hệ số thực nghiệm	Thành phần cơ giới	Hệ số thực nghiệm
Đất cát Đất thịt	1,45 1,50	Đất thịt pha sét Đất sét	1,60 1,72

+ Hầu hết nước tự nhiên chứa chủ yếu các muối bicacbonat và sunphat canxi, magie ; một lượng ít hơn các muối natri, kali và các muối clorua, nitrat. Thông thường, độ dẫn điện 1000 micromhos tương đương với 10 mgđl/ lít, và tương ứng với 0,70g muối/lít (700 ppm). Trên cơ sở này xây dựng mối quan hệ giữa giá trị đo với lượng muối tan (gam/lít) cho nước tự nhiên (xem phụ lục 10) có hàm lượng muối trung bình, nhưng natri và clorua thấp.

+ Nước mặn chứa chủ yếu các muối natri và clorua ; một phần bicacbonat, sunphat canxi, magie và các muối kali, một lượng nhỏ nitrat. Với nước mặn này, độ dẫn điện 1000 micromhos sẽ tương đương với 9,0 - 9,5 mgđl/lít, tương ứng với 0,60g muối trong 1 lít (600ppm). Trên cơ sở này xây dựng mối quan hệ giữa trị số đo độ dẫn điện micromhos với hàm lượng muối (g/lít) cho nước mặn chứa nhiều natri và clorua (xem phụ lục 10).

Qua các nghiên cứu cho thấy có thể xây dựng mối quan hệ giữa trị số đo độ dẫn điện (millimhos) ở 25°C với nồng độ muối trên cơ sở bảng sau :

Loại muối được chiết rút	Độ dẫn điện 1 millimhos ở 25°C tương đương với nồng độ muối tổng số	
	mili đương lượng gam (trong 1 lít)	gam/lít
- Chủ yếu là canxi và sunfat	12,5	0,85
- Canxi, sunfat, natri, clorua, ...	10,0	0,64
- Chủ yếu là natri và clorua	8,0	0,48

Các giá trị này chỉ có độ chính xác tương đối, nhưng có thể được áp dụng trong tính toán.

+ Trước và trong quá trình đo mẫu, cần kiểm tra và chỉnh máy bằng dung dịch KCl tiêu chuẩn theo các giá trị ở bảng sau :

Độ dẫn điện của dung dịch KCl ở các nồng độ và nhiệt độ khác nhau (micromhos)

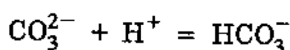
Nhiệt độ (°C)	0,002N	0,005N	0,01N	0,05N
15	239	585	1.147	5.404
20	266	651	1.278	6.024
25	293	720	1.413	6.656
30	321	792	1.552	7.300
35	351	867	1.695	7.956

+ Có thể biểu diễn kết quả phân tích ở dạng đơn vị micromhos hoặc millimhos ở 25°C hoặc chuyển thành mg/lít, tùy yêu cầu sử dụng kết quả.

3. Xác định cacbonat (CO_3^{2-}) và bicacbonat (HCO_3^-) trong nước của đất

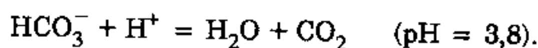
– *Nguyên lí phương pháp :* Thông thường nếu pH của đất (hoặc của nước) không vượt quá 8,4 thì không có mặt CO_3^{2-}. Song HCO_3^- thì có thể tồn tại trong điều kiện pH thấp hơn.

Có thể xác định CO_3^{2-} và HCO_3^- trong dung dịch bằng phương pháp chuẩn độ trung hòa với các chỉ thị màu riêng biệt như dùng axit chuẩn với chỉ thị màu là phenolphtalein để chuyển CO_3^{2-} thành HCO_3^- (pH = 8,3) :



$$CO_3^{2-} + H^+ = HCO_3^-$$

Sau đó chuẩn tiếp HCO_3^- với chỉ thị là metyl da cam :



$$HCO_3^- + H^+ = H_2O + CO_2 \quad (pH = 3{,}8).$$

– *Trình tự phân tích :*

25ml nước chiết từ đất (hoặc 50ml nước tự nhiên, nếu xác định trong nước) + 1 giọt chỉ thị phenolphtalein. Nếu không có màu hồng chứng tỏ không có CO_3^{2-}. Nếu có màu hồng dùng HCl 0,02N chuẩn độ đến mất màu (pH = 8,3).

Cho vào dung dịch này 2 giọt metyl da cam, dung dịch có màu vàng. Dùng HCl 0,02N chuẩn tiếp đến màu đỏ da cam (pH = 3,8).

– *Tính kết quả :*

$$CO_3^{2-} \text{ (mgđl/100g đất)} = \frac{V_1 . N . K}{W} . 100$$

Rút gọn : CO_3^{2-} (mgđl/100g đất) = V.0,4

$$CO_3^{2-} (\%) = CO_3^{2-} \text{ (1mgđl/100g đất)} \times 0{,}030$$

$$HCO_3^- \text{ (mgđl/100g đất)} = \frac{(V_2 - V_1)N.K}{W} . 100$$

$$HCO_3^- (\%) = HCO_3^- \text{ (mgđl/100g đất)} \times 0{,}061$$

V_1 : số ml HCl 0,02N chuẩn độ với chỉ thị phenolphtalein

V_2 : số ml HCl 0,02N chuẩn độ với metyl da cam

N : nồng độ đương lượng của HCl (0,02N)

K : hệ số pha loãng $\left(\frac{500}{25} = 20\right)$

W : lượng đất cân (100g).

0,030 và 0,061 : 1 mgđl HCl tương ứng với 0,030g CO_3^{2-} hoặc 0,061g HCO_3^-.

- *Hóa chất :*

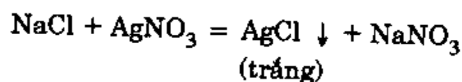
HCl 0,02N chuẩn.

Phenolphtalein 0,1% : 0,1g pha trong 100ml cồn.

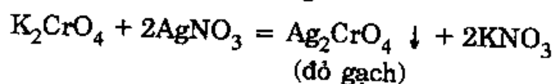
Metyl da cam 0,1% : 0,1g metyl da cam pha trong 100 ml cồn.

4. Xác định anion clo (Cl^-) – Phương pháp Mohr

- *Nguyên lí phương pháp :* Xác định Cl^- trong dung dịch dựa trên nguyên lí kết tủa phân đoạn trong môi trường trung tính với chất chỉ thị K_2CrO_4 :



$$NaCl + AgNO_3 = \underset{\text{(trắng)}}{AgCl \downarrow} + NaNO_3$$



$$K_2CrO_4 + 2AgNO_3 = \underset{\text{(đỏ gạch)}}{Ag_2CrO_4 \downarrow} + 2KNO_3$$

Như vậy một lượng dư nhỏ $AgNO_3$ sẽ kết hợp với K_2CrO_4 thành kết tủa màu đỏ gạch cho phép xác định điểm tương đương khi chuẩn độ Cl^- bằng $AgNO_3$.

- *Trình tự phân tích :*

20g đất lắc 5 phút với 100ml nước cất. Để yên 30 phút – 1 giờ rồi lọc (dịch lọc đục có thể cho vào một ít tinh thể KNO_3 để chống đục).

Lấy 25ml dịch lọc + 1ml K_2CrO_4 10% rồi chuẩn bằng $AgNO_3$ 0,02N. Lúc đầu xuất hiện kết tủa AgCl màu trắng. Sau đó chuẩn đến xuất hiện kết tủa đỏ gạch Ag_2CrO_4.

- *Tính kết quả :*

$$Cl^- \ (\%) = \frac{V.N.35{,}45.K}{W}.100.10^{-3}$$

Rút gọn : Cl^- (%) = V.0,0142

V, N : thể tích và nồng độ $AgNO_3$ dùng chuẩn độ

K : hệ số pha loãng $\left(\frac{100}{25} = 4\right)$

W : lượng đất cân (g).

- *Hóa chất :*

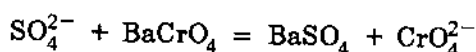
$AgNO_3$ 0,02N : 1,7g pha thành 1000 ml.

Dùng NaCl hoặc KCl tiêu chuẩn chuẩn độ lại.

K_2CrO_4 10% : 10g K_2CrO_4 hòa trong 100 ml nước cất.

5. Xác định sunfat (SO_4^{2-}) bằng phương pháp dùng baricromat (theo Xlap)

- *Nguyên lí phương pháp* : Trên cơ sở $BaSO_4$ có tích số tan nhỏ hơn $BaCrO_4$, dùng $BaCrO_4$ cho vào dung dịch chứa SO_4^{2-}, chúng sẽ đẩy CrO_4^{2-} ra dạng tự do. Lượng CrO_4^{2-} được giải phóng này chính bằng lượng SO_4^{2-} :



$$SO_4^{2-} + BaCrO_4 = BaSO_4 + CrO_4^{2-}$$

Để xác định lượng CrO_4^{2-} được giải phóng trong dung dịch người ta dùng phương pháp chuẩn độ ngược : Cho CrO_4^{2-} (có tính oxi hóa) tác dụng với một lượng dư Fe^{2+} (có tính khử). Sau đó dùng $KMnO_4$ để chuẩn lượng Fe^{2+} dư thừa.

- *Trình tự phân tích :*

+ 20 gam đất lắc 5 phút với 100ml nước cất, để yên nửa giờ rồi lọc.

+ Lấy 50ml dịch lọc + 10 ml $BaCrO_4$ 0,1N lắc đều 5 phút. Thêm 10ml NH_4OH 5%, lắc đều vài phút rồi lên thể tích (trong bình định mức 100ml) đến 100ml. lọc (dung dịch có màu vàng).

+ Lấy 50ml dịch lọc này + 2ml H_2SO_4 đặc (d = 1,84) + 10ml muối Mohr 0,02N. Lắc đều rồi chuẩn bằng $KMnO_4$ 0,02N đến xuất hiện màu tím (V_1). Đồng thời lấy 10ml muối Mohr chuẩn bằng $KMnO_4$ 0,02N (V_2).

- *Tính kết quả :*

$$SO_4^{2-}(\%) = \frac{(V_2 - V_{1)} . N . K . 32,02 . 10^{-3}}{W} . 100$$

Rút gọn : $SO_4^{2-}(\%) = (V_2 - V_{1)} . 0,0128$

V_1 : số ml $KMnO_4$ 0,02N chuẩn độ mẫu

V_2 : số ml KMnO4 0,02N chuẩn độ 10 ml muối Mohr

N : nồng độ $KMnO_4$ (0,02N)

32,02 là 1/3 lượng ion SO_4^{2-}

W : lượng đất cân (20g)

K : hệ số pha loãng ($\frac{100}{25} = 4$).

- *Hóa chất :*

$BaCrO_4$ 0,1N : 12,6g $BaCrO_4$ cho vào bình định mức 1000ml, cho vào 50ml HCl đặc (d = 1,19) lắc đều rồi định mức đến vạch bằng nước cất (đảo đều cho tan).

$KMnO_4$ 0,02N : pha loãng 5 lần từ $KMnO_4$ 0,1N chuẩn.

Muối Mohr 0,02N : cho 8g $FeSO_4.(NH_4)_2SO_4.6H_2O$ vào bình định mức 1000 ml. Hòa tan bằng khoảng 500ml nước cất, cho vào 20 ml H_2SO_4 đặc rồi lên thể tích đến 1000ml bằng nước cất (nếu đục cần lọc hoặc để lắng cặn).

NH_4OH 5% : 215,4ml NH_4OH đặc (25%) pha với nước cất thành 1 lít.

- *Ghi chú :*

Phương pháp này không dùng $BaCrO_4$ dạng kết tủa mà dùng ở dạng dung dịch để tăng tốc độ phản ứng với SO_4^{2-}.

$BaSO_4$ kết tủa tốt nhất ở độ axit khoảng 0,05N. Tuy nhiên thời gian để kết tủa có tài liệu đề nghị để yên từ 30 phút và có thể để qua đêm.

6. Xác định tổng canxi, magie hòa tan trong nước của đất

- *Nguyên lí phương pháp :* Ở pH = 10, EDTA (Etylenediaminetetraacetic axit) tạo thành phức bền vững với Ca^{2+} và Mg^{2+}. Phức chất này hòa tan trong nước và xảy ra tốt nhất ở 60°C. Do vậy có thể dùng EDTA chuẩn độ xác định Ca^{2+}, Mg^{2+} trong dung dịch với chỉ thị màu là eriocrom xanh đen B(Eriocrome blue-black B) hoặc eriocrom đen T (Eriocrome black T).

- *Trình tự phân tích :*

Lấy 20ml dịch chiết đất (tỉ lệ đất : nước thường là 1 : 5) cho vào bình tam giác + vài tinh thể hiđroxylamin hidroclorid ($NH_2OH - HCl$) (hoặc thay bằng axit ascobic), + 1ml kali xianua 2%, + 1ml kali ferroxianua 2% + 5ml dung dịch đệm etanolamin.

Đun nóng 60°, rồi cho vào 0,2ml eriocrom xanh đen B rồi chuẩn bằng EDTA 0,02N đến màu xanh lam.

- *Tính kết quả :*

$$Ca^{2+} + Mg^{2+} \text{ (mgđl/100gđ)} = \frac{V.N.K}{W}.100$$

V, N : thể tích và nồng độ EDTA chuẩn mẫu

K : hệ số pha loãng.

W : lượng đất cân.

- *Hóa chất :*

Hiđroxylamin hiđroclorid hoặc axit ascobic tinh thể.

Kali xianua 2%.

Kali ferroxianua 2% : pha đủ dùng trong vài ngày.

Dung dịch đệm etanolamin có chứa phức chất EDTA – Mg :

Hòa tan 125 ml HCl đặc đến 500ml. Cho vào 310 ml etanolamin (2 – hiđroxyetylamin, 0,508g).

Chuẩn độ 50ml $MgCl_2$ 0,02N bằng EDTA 0,02N theo thể tích EDTA tiêu tốn (V ml). Chuẩn bị phức EDTA – Mg bằng việc thêm 2Vml EDTA với 100ml $MgCl_2$ 0,02N.

Trộn đều hỗn hợp phức chất EDTA – Mg với dung dịch etanolamin hiđroclorit trên rồi lên thể tích 1000ml.

EDTA 0,02N : hòa tan 3,7225g EDTA ($Na_2H_2C_{10}H_{12}O_8N_2 \cdot 2H_2O$) đã sấy khô ở 80^oC 2 giờ trong nước cất đến 1000 ml.

Eriocrom xanh đen B : 0,5g trong 100ml ethanol.

$MgCl_2$ 0,02N : 2,1g $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ hòa tan trong 1 lít. Nồng độ của nó được dùng EDTA 0,02N chuẩn lại.

Ghi chú :

+ Trong dịch chiết có mặt nhiều ion kim loại khác có thể gây ảnh hưởng đến phép chuẩn độ như Zn^{2+} , Mn^{2+} , Cu^{2+}, Fe^{3+},... Thông thường Zn^{2+} và Mn^{2+} cũng tạo phức với EDTA sẽ làm tăng kết quả xác định Ca, Mg ; Mn^{4+} và Fe^{3+} có ảnh hưởng đến sự đổi màu của chỉ thị màu ; Cu^{2+} có thể tạo phức bền vững màu đỏ với EDTA, do vậy cần phải loại trừ chúng khi chuẩn độ Ca, Mg bằng EDTA. Hidroxylamin (hoặc axit ascobic) có thể khử sắt, mangan ; kali xianua sẽ tạo phức bền vững với Cu, Zn và Fe^{2+} ; kali ferroxianua sẽ kết tủa magan dưới dạng manganferroxianua.

+ Màu chỉ thị chuyển sang màu xanh rõ rệt khi có mặt nhiều Mg^{2+}. Vì vậy 1 lượng nhỏ EDTA – Mg cho thêm vào (được pha ngay trong dung dịch đệm) là có tác dụng tăng cường độ màu ở điểm tương đương, nhất là khi dịch chiết ít Mg^{2+}.

+ Dung dịch đệm có thể sử dụng là $NH_4OH + NH_4Cl$ (xem xác định Ca, Mg trao đổi trong đất – chương 9.6). Nhưng đệm etanolamin không có mùi như đệm amôni clorua.

+ Chỉ thị màu eriocrom xanh đen B có thể được thay thế bằng eriocrom đen T. Song eriocrom xanh đen B bền vững hơn và dùng được ở dạng dung dịch. Trong khi eriocrom đen T được dùng ở dạng rắn mới cho màu rõ rệt.

+ Ca^{2+} , Mg^{2+} cũng có thể được xác định bằng hấp thụ nguyên tử.

7. Xác định kali hòa tan trong nước bằng quang kế ngọn lửa

– *Nguyên lí phương pháp :* Hiện nay phương pháp xác định kali phổ biến là dùng quang kế ngọn lửa, dựa trên cơ sở kali bị đốt sẽ phát ánh sáng màu tím đặc trưng tương ứng vùng ánh sáng có bước sóng 767 nm. Để đo cường độ sáng phát ra, dùng kính lọc màu đỏ có bước sóng tương ứng (khoảng 750 nm).

Thông thường nước chiết từ đất có hàm lượng kali không cao (hầu hết nhỏ hơn 1 mgđl/lít). Trừ đất mặn ven biển có kali hòa tan cao. Nồng độ thích hợp để xác định bằng quang kế ngọn lửa là khoảng 0 – 1,0 mgđl/lít.

Sự có mặt của các cation trong dung dịch có ảnh hưởng không lớn đến việc đo kali bằng quang kế ngọn lửa. Riêng natri có ảnh hưởng lớn hơn nên cần hạn chế ảnh hưởng này khi Na^+ có mặt nhiều trong dung dịch, bằng cách dùng các dung dịch chuẩn kali có chứa lượng Na^+ tương ứng với dung dịch mẫu.

– *Trình tự phân tích :*

Chuẩn bị dịch chiết rút như phần 1 chương 10.

Chuẩn bị quang kế ngọn lửa, điều chỉnh máy theo thang chuẩn kali.

Đo mẫu, trị số đo mẫu nằm trong giới hạn của thang chuẩn là tốt nhất.

- *Hóa chất* :

Dung dịch KCl 0,5N chuẩn : 1,864g KCl khô hòa thành 500ml. Pha loãng thành dãy chuẩn có nồng độ 0,1 - 0,2 - 0,3 - 0,4 - 0,5 mgdl/lít (pha 2, 4, 6, 8, 10 ml KCl 0,05N đến 1000ml trong mỗi bình).

Dung dịch KCl 0,05N : pha loãng 10 lần dung dịch KCl 0,5N bằng nước cất.

- *Ghi chú* :

+ Kali có thể được xác định bằng hấp thụ nguyên tử.

+ Để hạn chế ảnh hưởng của các cation khác cần tạo được dung dịch chuẩn có thành phần tương tự như dung dịch mẫu. Tuy nhiên điều này khó thực hiện. Thông thường người ta chú ý nhiều đến ảnh hưởng của Na^+ . Do vậy với đất mặn có thể pha thang chuẩn kali có cho thêm NaCl với nồng độ 50 ml NaCl 1,0N trong 1 lít dung dịch KCl có nồng độ 0,1 - 0,2 - 0,3 - 0,4 - 0,5 mgdl K^+/lít ở trên (NaCl 1,0N : 29,2g NaCl pha trong 500ml nước cất).

8. Xác định natri hòa tan trong nước bằng quang kế ngọn lửa

- *Nguyên lí phương pháp* : Cũng như kali, natri thường được xác định bằng quang kế ngọn lửa do natri có khả năng phát ánh sáng vàng dưới tác dụng của ngọn lửa đốt, tương ứng vùng ánh sáng có bước sóng 589,6 nm. Cường độ ánh sáng tỉ lệ với nồng độ Na^+ trong dung dịch.

So với kali, ảnh hưởng của các cation khác là lớn hơn, đặc biệt là Ca^{2+} và K^+. Do vậy cần phải loại trừ chúng, bằng cách pha các dung dịch chuẩn có thành phần tương tự.

Nồng độ thích hợp xác định Na^+ bằng quang kế ngọn lửa là từ 0 - 1,0 mgdl/lít dung dịch. Vì ở nồng độ cao sự phụ thuộc giữa cường độ phát sáng và nồng độ Na^+ không còn là đường thẳng nữa.

- *Trình tự phân tích* : Xem phần xác định kali hòa tan.

- *Hóa chất* :

NaCl 0,05N tiêu chuẩn : 1,4612g NaCl khô hòa tan trong nước cất và định mức đến 1000 ml. Từ dung dịch này lấy 2 - 4 - 6 - 8 - 10 ml pha thành 1000 ml được thang chuẩn có nồng độ tương ứng là 0,1 - 0,2 - 0,3 - 0,4 - 0,5 mgdlNa^+/lít.

- *Ghi chú* :

+ Trong các cation ảnh hưởng đến việc đo Na^+ đáng chú ý nhất là Ca^{2+} và K^+. Để loại trừ ảnh hưởng này cần pha dung dịch chuẩn có nồng độ các cation tương ứng. Thường pha vào dãy thang chuẩn trên lượng $CaSO_4$ tương ứng 30 mgdl/lít.

+ Khi đo có thể đo đồng thời K^+ và Na^+ qua 2 hệ thống kính lọc màu và đồng hồ chỉ số đo khác nhau.

9. Đánh giá độ chính xác và sử dụng kết quả phân tích các chất hòa tan trong nước của đất

Thành phần và số lượng các chất hòa tan trong nước phản ánh tính chất của dung dịch đất. Nghiên cứu chúng có ý nghĩa rất lớn đối với dinh dưỡng cây trồng và cải tạo đất nói chung. Thông thường mỗi chất hòa tan trong nước đều là thể hiện một mặt tính chất dinh dưỡng của đất. Nhưng trên thực tế thường chú ý đến việc xác định hàm lượng muối tan, vì chúng liên quan trực tiếp đến đời sống cây trồng và được sử dụng như 1 chỉ tiêu phân loại đất.

Đánh giá độ chính xác của kết quả xác định : Để đánh giá độ chính xác của các phép phân tích cần dựa vào phân tích tổng số và phân tích các thành phần riêng rẽ. Thông thường, để bảo đảm độ chính xác phải làm lặp lại 2 đến 3 lần. Độ chính xác phân tích phải bảo đảm như sau :

– Sai số giữa 2 lần phân tích :

Tổng lượng muối tan (%)	Sai số chênh lệch giữa 2 lần xác định (%)
< 0,05	15 - 20
0,05 - 0,2	10 - 15
0,2 - 0,5	5 - 10
> 0,5	< 5

– Sai số cho phép giữa tổng lượng muối tan với tổng lượng ion tan (bằng xác định riêng rẽ) :

Tổng lượng muối (%)	Sai số cho phép (%)
< 0,05	25 đến + 20
00,5 - 0,2	20 đến + 15
0,2 -0,5	15 đến + 10
> 0,5	10 đến + 5

– Sai số chênh lệch giữa 2 lần xác định các loại ion :

Hàm lượng ion (mgđl/100 g đất)	Sai số chênh lệch cho phép (%)
< 0,5	10 - 15
1 - 5	5 -10
> 5	< 5

10. Sử dụng kết quả phân tích để phân loại đất

Trên cơ sở tổng lượng muối tan, Cl^- và SO_4^{2-} trong đất có thể phân loại đất theo độ mặn. Có nhiều cách phân chia khác nhau theo từng tác giả, từng nước. Sau đây xin giới thiệu một số cách phân chia độ mặn của đất như sau :

– Theo Chiupunnư :

Đất	*Hàm lượng muối (%)*
Đất không mặn	< 0,3
Đất mặn ít	0,3 – 0,6
Đất mặn trung bình	0,6 – 1,0
Đất mặn	1,0 – 2,0
Đất rất mặn	2,0 – 3,0
Đất Solontrat	> 3,0

– Phân loại theo Tsôsin, dựa vào Cl^-, SO_4^{2-}

Đất	Hàm lượng Cl^- (%)	Hàm lượng SO_4^{2-} (%)	Hỗn hợp Cl^-, SO_4^{2-} (%)
Mặn ít	0,2 – 0,6	1,0 – 1,3	0,4(0,6) – 0,8(0,9)
Mặn trung bình	0,6 – 1,0	1,3 – 1,7	0,8(0,9) – 1,2(1,3)
Mặn	1 – 2	1,7 – 2,7	1,2(1,3) – 2,2(2,3)
Rất mặn	2 – 3	2,7 – 3,7	2,2(2,3) – 3,2(3,3)
Solontrat	> 3	> 3,7	> 3,3

– Phân loại đất dựa vào tỉ số Cl^-, SO_4^{2-}

Tỉ số Cl^-/SO_4^{2-}	Loại đất
> 4	mặn clorua
4 – 1	mặn clo – sunphat
1 – 0,5	mặn sunphat – clo
< 0,5	mặn sunphat

Chương 11

XÁC ĐỊNH CÁC NGUYÊN TỐ VI LƯỢNG TRONG ĐẤT

Trong dinh dưỡng của thực vật và vi sinh vật, ngoài các nguyên tố nitơ, photpho và kali, các nguyên tố vi lượng như bo, mangan, đồng, kẽm, coban, molipđen... có ý nghĩa lớn. Một lượng nhỏ của các nguyên tố này cần thiết cho nhiều quá trình sinh học xảy ra trong các cơ thể thực vật và động vật. Nguồn cung cấp chủ yếu các nguyên tố vi lượng trong đất là các đá tạo thành đất. Trong quá trình tạo thành đất và hoạt động sống của thực vật và động vật xảy ra quá trình phân bố lại các nguyên tố vi lượng theo phẫu diện đất.

Hàm lượng các nguyên tố vi lượng trong các loại đất không vượt quá $10^{-4}\%$, trừ mangan hàm lượng của nó trong một số trường hợp, ví dụ như trong các thành tạo mới của mangan – sắt đôi khi được tính đến phần trăm.

Tuy nhiên mangan vẫn được xếp vào các nguyên tố vi lượng khi tính đến hàm lượng thấp của nó trong các cơ thể sống và vai trò sinh hóa to lớn của nó trong đời sống động, thực vật.

Khi nghiên cứu hàm lượng các nguyên tố vi lượng trong đất người ta thường xác định hàm lượng tổng số và hàm lượng có thể sử dụng được đối với dinh dưỡng của thực vật như thường được gọi là dạng di động của các nguyên tố vi lượng.

– *Chọn phương pháp xác định, chuẩn bị đất và các thuốc thử*

Khi tiến hành nghiên cứu hàm lượng các dạng khác nhau của các nguyên tố vi lượng cần lựa chọn các phương pháp xác định chúng, phương pháp phải đảm bảo được độ chính xác, độ nhạy và độ chọn lọc.

Chỉ có thể xác định một lượng nhỏ các chất bằng các phương pháp có độ nhạy cao. Tuy nhiên các phương pháp có độ nhạy cao thường có độ chính xác thấp, ví dụ như phương pháp khối lượng có sai số tương đối tính theo phần trăm $\leq 0{,}01\%$, phương pháp trắc quang là 2 – 3%, phương pháp cực phổ dòng khuếch tán là 5 – 10%.

Mẫu đất được nghiền trong cối mã não và rây qua rây làm bằng sợi capron và khung rây làm từ các vật liệu hữu cơ.

Nước dùng trong phân tích là nước cất được cất lại hay cho đi qua nhựa trao đổi ion. Thường sử dụng nước cất hai lần.

Các axit và amoniac cũng được tinh chế bằng cách cất hay sử dụng thuốc thử loại đặc biệt tinh khiết. Các thuốc thử khác được tinh chế theo mô tả trong phương pháp xác định của từng nguyên tố. Các thuốc thử thường bị bẩn nguyên tố kẽm vì thế khi xác định nguyên tố này cần phải tiến hành thí nghiệm kiểm tra sự có mặt của nó trong các thuốc thử sử dụng.

Thành phần của thủy tinh để chế tạo các dụng cụ thí nghiệm cũng cần phải được lưu tâm, đặc biệt khi xác định bo.

Những hóa chất dùng để pha dung dịch chuẩn nên kết tinh lại. Thường hay pha hai loại dung dịch chuẩn : dung dịch chuẩn gốc và dung dịch chuẩn sử dụng. Dung dịch chuẩn gốc thường được pha với hàm lượng 0,1 mg nguyên tố trong 1 ml ; cân những lượng cân với hàm lượng nguyên tố như vậy cho phép chúng ta có thể tránh được sai số. Dung dịch chuẩn sử dụng được chuẩn bị bằng cách pha loãng dung dịch chuẩn gốc. Khi pha loãng 10 lần ta được dung dịch chứa 0,01 mg hay 10 μg/ml. Khi pha loãng 100 lần nhận được dung dịch có hàm lượng 0,001 mg hay 1 μg/ml. Vì những dung dịch quá loãng không bền nên người ta chỉ chuẩn bị các dung dịch này trong ngày tiến hành phân tích và chỉ giữ trong ngày đó.

– *Tính kết quả xác định các nguyên tố vi lượng*

Kết quả xác định các nguyên tố vi lượng trong đất được biểu thị bằng mg trong 1kg đất (mg/kg) hoặc biểu thị bằng ppm (parts per million) nghĩa là một phần một triệu tương ứng với $10^{-4}\%$.

– *Xác định dạng di động của các nguyên tố vi lượng*

Những hợp chất của các nguyên tố vi lượng dễ dàng chuyển vào trong các dung dịch chiết rút khác nhau được gọi là dạng di động của các nguyên tố vi lượng.

Những hợp chất hòa tan trong nước, những dạng trao đổi và những hợp chất hòa tan trong các axit có nồng độ thấp cũng như trong các dung dịch đệm đều được xếp vào các hợp chất di động. Các dung dịch dùng để chiết rút các hợp chất di động hiện có rất nhiều, thường là các dung dịch axit và các dung dịch đệm. Các dung dịch này khác nhau về lực tác dụng của chúng đối với đất và một số trường hợp dung dịch chiết rút được sử dụng như là một thuốc thử nhóm rồi xác định một số nguyên tố vi lượng quan trọng ở trong đó. Trong một số phương pháp khác để chiết rút từng nguyên tố vi lượng, người ta sử dụng những thuốc thử khác nhau.

Sự lựa chọn một dung dịch chiết rút thích hợp để chiết rút nguyên tố vi lượng di động trong đất được đánh giá bằng cách so sánh những số liệu phân tích nhận được với các kết quả của các thí nghiệm ngoài đồng có sử dụng các phân vi lượng ở các cây trồng và trong những điều kiện thổ nhưỡng không giống nhau ; từ đó giải thích về mức độ đảm bảo của đất về các nguyên tố vi lượng đối với dinh dưỡng của thực vật.

Đã có nhiều nghiên cứu công phu để chọn lựa, so sánh các dung dịch chiết rút nhóm và các dung dịch chiết rút riêng biệt các nguyên tố vi lượng. Các dung dịch chiết rút nhóm thường được đề cập đến là :

Dung dịch axetat – lactat theo phương pháp Egner – Rim – Doming (phương pháp AL).

Dung dịch HCl 1N (phương pháp Rinhkis).

Dung dịch EDTA 0,01M + dung dịch đệm amoni axetat pH = 4,7 (amoni axetat 0,5N và axit axetic 0,5N).

Dung dịch đệm oxalat (phương pháp Grigg).

Dung dịch đệm amoni axetat pH = 4,8 theo phương pháp của Krupski – Alecxandrova (dùng cho đất cacbonat và trung tính).

Dung dịch Baron pH = 4 (gồm amoni axetat, amoni sunfat và axit axetic).

Với từng nguyên tố, sử dụng các dung dịch chiết rút riêng sau đây :

B : nước cất nóng (theo Berger và Truog)

Cu : HNO_3 0,43 N (theo Vesterhoff) ; HCl 1N (theo Rinhkis)

Mn : H_2SO_4 0,1 N (theo Dobritxcaia) ; dung dịch sunfat (theo Schachtschabel)

Zn : KCl 1N (theo Rinhkis) ; EDTA + $(NH_4)_2CO_3$ (theo Trierveiler và Lindsay) ; HCl 0,1N (theo Zommer)

Mo : dung dịch đệm oxalat pH = 3,3 (theo Grigg).

Từ các kết quả phân tích đất, phân tích cây trong các thí nghiệm trong chậu và ngoài đồng, nhiều nhà nghiên cứu đã rút ra nhận xét :

Dung dịch chiết rút có độ axit càng mạnh thì lượng các nguyên tố vi lượng được chiết rút ra càng lớn. Lượng các nguyên tố vi lượng được chiết rút ra bằng HCl 1N là lớn nhất.

BaLan, Cộng hòa Sec sử dụng HCl 1N làm dung dịch chiết rút nhóm để xác định kẽm, đồng, mangan ; Liên Xô (cũ) dùng dung dịch đệm amoni axetat (pH = 4,8) làm dung dịch chiết rút nhóm để xác định mangan, đồng, kẽm và coban trong đất trung tính và đất cacbonat (hàm lượng cacbonat không quá 10%).

Ở Liên Xô (cũ) sử dụng phổ biến hệ thống dung dịch chiết rút do I.V.Peive và G.I.Rinhkis đưa ra để xác định dạng di động của các nguyên tố vi lượng đối với đất không phải cacbonnat.

Trong hệ thống này để chiết rút mỗi nguyên tố vi lượng người ta sử dụng những thuốc thử riêng. Phương pháp này đã được phòng thí nghiệm hóa học đất Học viện thổ nhưỡng mang tên V.V. Docutsaev cải tiến. Tỉ lệ giữa đất và dung dịch chiết rút là 1 : 10, lắc 1 giờ.

1. Xác định bo di động

Để chiết rút bo di động từ đất người ta thường xử lí đất bằng nước sôi. Phương pháp này đã được Berger và Truog đưa ra năm 1939. Hiện nay phương pháp đã được cải tiến về tỉ lệ giữa đất, nước và thời gian đun sôi.

Chiết bo di động từ đất : Cân 20 – 50g đất khô không khí đã rây qua rây 1 mm cho vào bình làm từ thạch anh hay từ thủy tinh không bo. Thêm nước cất với lượng gấp hai lượng đất cân theo tỉ lệ 1 : 2 (đối với đất than bùn 1 : 10). Đun nóng bình đến sôi và giữ sôi 10 phút. Bình đun phải có sinh hàn, nếu không có thể thay bằng một ống thủy tinh dài 25 – 30 cm làm từ thủy tinh không bo, cắm vào nút lie. Lọc dung dịch nóng qua giấy lọc không tàn. Lấy 20 – 40 ml (tùy thuộc vào hàm lượng bo) dung dịch lọc trong cho vào bát thạch anh hay bát platin, thêm vào 1 ml dung dịch NaOH hay KOH 1N rồi chưng dung dịch trên bếp cách thủy đến khô. Nung phần khô này trong lò nung tại nhiệt độ 450 – 500°C đến khi phá hủy hoàn toàn chất hữu cơ và nitrat (1–2 giờ). Sau đó có thể dùng phương pháp carmin hay phương pháp quinalizarin để xác định bo.

a) Xác định bo di động bằng phương pháp carmin. Hòa tan phần khô sau khi nung trong 5 – 10ml dung dịch H_2SO_4 0,5N, nghiền cẩn thận bằng một que thủy tinh khô làm từ thủy tinh không bo. Lọc dung dịch qua giấy lọc không tàn, hứng dung dịch lọc.

Dùng pipet hút lấy 1ml cho vào ống nghiệm nút nhám, thêm chính xác 9ml dung dịch carmin 0,005% trong H_2SO_4 (d = 1,84), nút ống nghiệm, lắc đều và giữ yên 12 – 18 giờ, sau đó đo mật độ quang trong cuvet dày 3 cm, đậy cuvet bằng nắp thủy tinh.

Kết quả phân tích được tính theo đường chuẩn hoặc bằng phương pháp tính.

Cần chú ý là dung dịch phân tích và dung dịch chuẩn được lấy cùng bằng một pipet.

- *Hóa chất :*

+ H_2SO_4 đặc loại tinh khiết đặc biệt hay tinh khiết hóa học. Nồng độ được xác định bằng tỉ trọng kế.

Kiểm tra xem có NO_3^- trong axit này bằng cách rót 9ml nước cất vào trong ống nghiệm sạch, khô, sau đó rót vào 1 ml H_2SO_4 đặc, lắc đều. Sau khi nguội, thêm từ từ, dọc theo thành ống 5ml dung dịch điphenylamin trong H_2SO_4 đặc vào trong ống nghiệm. Nếu có nitrat, trên ranh giới giữa hai chất lỏng xuất hiện một vùng hoặc một vòng màu xanh nước biển.

Axit bị bẩn NO_3^- và những axit có màu nhạt cũng không nên dùng để xác định bo. Để xác định bo tốt nhất là sử dụng loại đặc biệt tinh khiết, có thể sử dụng loại tinh khiết hóa học đã thử trước không có NO_3^- và bo.

+ Dung dịch carmin 0,005% trong H_2SO_4 đặc. Cần phải thử trước chất lượng carmin : cho dung dịch axit boric vào ống nghiệm rồi thêm vào một lượng vừa phải dung dịch carmin trong axit sunfuric đặc. Thêm dung dịch carmin cần phải ở lượng tối thiểu.

Nếu dung dịch axit boric có màu xanh nước biển thì carmin có thể sử dụng được.

Sau khi kiểm tra, cân trên cân phân tích 50 mg carmin cho vào bình định mức 1 lít, thêm 500 - 600 ml H_2SO_4 đặc (d = 1,84) khuấy đều dung dịch cho đến khi hòa tan hoàn toàn (tốt nhất là để qua đêm), sau đó thêm H_2SO_4 đặc đến vạch mức. Đậy bình và lật ngược bình một vài lần để dung dịch trở nên đồng nhất.

Dung dịch carmin đựng trong lọ nút nhám để ở chỗ tối. Dung dịch có màu đỏ, nếu dung dịch có màu khác, không thuận lợi để định lượng bo.

+ Axit boric : H_3BO_3

Để xây dựng đường chuẩn cần phải dùng H_3BO_3 kết tinh lại 2 lần.

Độ tan của axit boric tại 0°C là 2g trong 100 ml nước cất, tại 20°C là 5g và tại 100°C là 40g. Cân 10 - 12g axit boric, hòa tan khi đun nóng và khuấy liên tục trong 100 ml nước cất. Đun dung dịch đến sôi, lọc dung dịch nóng qua giấy lọc băng trắng, hứng dung dịch lọc vào trong bình rộng làm từ thủy tinh không bo. Làm lạnh bình bằng vòi nước hoặc nước đá.

Dùng phễu Busner lọc H_3BO_3 qua giấy lọc băng trắng, rửa axit này 3 - 4 lần bằng những lượng nhỏ nước cất lạnh.

Lấy H_3BO_3, làm khô ở ngoài không khí, trên tờ giấy lọc, đậy bằng một tờ giấy lọc khác, cùng loại.

Chuyển kết tủa vào trong cốc cân rộng đáy, không đậy nắp cốc cân rồi đặt cốc vào trong bình hút ẩm có chứa H_2SO_4 đặc đến khối lượng không đổi. Axit boric kết tinh lại được giữ trong cốc cân đậy nắp và để trong bình hút ẩm.

+ Dung dịch chuẩn gốc : Cân 0,2858g axit boric đã kết tinh lại trên cân phân tích sau đó chuyển lượng cân vào bình định mức 500 ml nút nhám. Hòa tan bằng H_2SO_4 0,5N sau đó định mức đến vạch mức cũng bằng chính dung dịch axit này.

Đậy nút và lật ngược bình vài lần để trộn đều dung dịch. Ta được dung dịch chuẩn gốc có hàm lượng bo là 0,1 mg/ml.

+ Dung dịch chuẩn sử dụng : Dùng H_2SO_4 0,5N pha loãng dung dịch chuẩn gốc lên 10 lần ta được dung dịch chuẩn sử dụng có hàm lượng bo là 0,01 mg/ml.

– *Thang chuẩn :* Dùng 2 micro buret có thể tích 1 hoặc 2 ml, một đựng dung dịch chuẩn sử dụng, một đựng H_2SO_4 0,5N. Lấy các thể tích dung dịch chuẩn sử dụng : 0,00 ; 0,05 ; 0,10 ; 0,20 ; 0,40 ; 0,60 ; 0,80 ; 1,00 ml cho vào ống nghiệm sạch, khô làm từ thủy tinh không bo hoặc làm từ thạch anh ; sau đó thêm các thể tích H_2SO_4 0,5N vào để thể tích dung dịch trong mỗi ống đúng bằng 1 ml. Lắc đều rồi thêm vào mỗi ống nghiệm chính xác 9ml dung dịch carmin 0,005%. Lắc đều và giữ yên 24 giờ để màu ổn định hoàn toàn, ta được thang màu chuẩn.

+ H_2SO_4 0,5N : lấy 14ml H_2SO_4 đặc hòa tan trong H_2O, thêm dần nước đến 1 lít.

b) Xác định bo theo phương pháp quinalizarin

– *Nguyên lí phương pháp :* Phương pháp dựa trên sự thay đổi màu tím của quinalizarin (1, 2, 5, 8 – tetra oxianthraquinon) trong môi trường H_2SO_4 đặc sang màu xanh nước biển khi có mặt bo. Khi có mặt bo, quinalizarin sẽ tạo thành một hợp chất nội phức. Độ nhạy của quinalizarin cao hơn so với carmin vì hệ số hấp thụ phân tử cao hơn (ε = 7000 tại bước sóng 615nm).

Vì màu của hợp chất phức boquinalizarin chỉ tuân theo định luật Bia khi hàm lượng bo không vượt quá 1 μg/ml nên trong đường chuẩn cũng chỉ xây dựng với hàm lượng bo từ 0 – 1 μg/ml.

– *Trình tự phân tích.* Lấy 1 ml dung dịch phân tích cho vào ống nghiệm hay ống trụ làm từ thủy tinh không bo hoặc làm từ thạch anh có thể tích là 20 – 25ml.

Tùy thuộc vào nồng độ axit sử dụng, dùng buret thêm 19,0 – 22,0 ml dung dịch quinalizarin trong axit sunfuric. Đậy nút ống nghiệm, lắc đều dung dịch và giữ yên 12 – 18 giờ để cho màu ổn định hoàn toàn sau đó đo màu trên máy trong cuvet 3cm, dùng miếng thủy tinh để đậy cuvet.

Dung dịch so sánh là dung dịch không.

– *Hóa chất :*

H_2SO_4 93,56 – 95,60% loại đặc biệt tinh khiết hoặc tinh khiết hóa học.

Dung dịch quinalizarin trong axit sunfuric : hòa tan 10 – 20 mg quinalizarin trong 1 lít H_2SO_4 đặc.

Vì rằng số mililit dung dịch này thêm vào mẫu phụ thuộc vào hàm lượng phần trăm H_2SO_4 nên cần phải xác định hàm lượng của nó.

Đĩa cân phân tích bên trái đặt cốc cân hoặc bình tam giác có nút nhám dung tích 100 ml ; đĩa cân bên phải đặt quả cân 2g. Dùng pipet có quả bóp bằng cao su thêm cẩn thận H_2SO_4 đặc vào cốc cân hoặc bình tam giác cho đến khi cân thăng bằng.

Đậy cốc cân hoặc bình tam giác và xác định chính xác lượng H_2SO_4 đã lấy. Khi cho axit vào cần chú ý không cho axit rơi ra đĩa cân hay rơi ra phía ngoài cốc cân hay bình tam giác.

Chuyển toàn bộ lượng axit đã cân vào bình định mức 500ml trong đó đã có sẵn 100 - 200 ml nước cất. Rửa cẩn thận cốc cân, hay bình tam giác một vài lần bằng nước để chuyển hết axit sang bình định mức. Thêm nước đến vạch mức và khuấy đều. Dùng pipet lấy 3 mẫu, mỗi mẫu 25ml cho vào bình tam giác 250ml, thêm vào 2 giọt chỉ thị metyl da cam 0,1% và dùng dung dịch NaOH 0,1N để chuẩn.

Hàm lượng H_2SO_4 theo phần trăm được tính theo công thức :

$$H_2SO_4\ (\%) = \frac{V \cdot 0,004904 \cdot 100}{2} = \frac{V \cdot 0,4904}{2}$$

Ở đây V là thể tích NaOH 0,1N đã dùng để chuẩn độ (ml) ; 0,004904 : lượng H_2SO_4 tính ra gam, tương ứng với đúng 1 ml dung dịch NaOH 0,1 N ; 2 : lượng H_2SO_4 tính theo gam.

Tùy thuộc vào hàm lượng phần trăm H_2SO_4 tìm được, đối với 1 ml dung dịch thí nghiệm hoặc dung dịch chuẩn chúng ta lấy các lượng quinalizarin khác nhau :

Hàm lượng H_2SO_4 (tính theo %)	Dung dịch quinalizarin (ml)
93 - 94	22,0
≈ 94,5	20,0
95 và cao hơn	19,0

Khi sử dụng axit có nồng độ cao hơn 94,5%, thuận lợi hơn cả là nên pha loãng để được dung dịch có nồng độ 93 - 94%.

Thường pha 1 - 2 *l* hoặc nhiều hơn dung dịch quinalizarin trong axit sunfuric. Dung dịch được giữ trong lọ thủy tinh nút nhám, đặt ở chỗ tối.

– *Thang chuẩn :* Dùng nước cất pha loãng dung dịch chuẩn gốc có chứa 0,1 mg bo/1ml ra 100 lần ta được dung dịch chuẩn sử dụng. Dùng micro buret cho vào các ống nghiệm nút nhám sạch, khô làm bằng thạch anh hoặc thủy tinh không bo. Các thể tích dung dịch chuẩn sử dụng như sau (ml) : 0,00 ; 0,20 ; 0,40 ; 0,60 ; 0,80 ; 1,00, dùng nước cất hai lần đưa thể tích lên đúng 1 ml.

Thêm vào mỗi ống 9ml dung dịch quinalizarin trong H_2SO_4, đậy ống nghiệm, lắc đều rồi giữ yên trong khoảng thời gian từ 12 - 18 giờ, sau đó đo mật độ quang và xây dựng đường chuẩn.

2. Xác định đồng di động

a) Xác định đồng di động theo Rinhkis

– *Nguyên lí phương pháp :* Phương pháp dựa trên quá trình chiết rút đồng di động từ đất bằng dung dịch HCl 1N. Tỉ lệ giữa đất và dung dịch là 1 : 10. Lắc trên máy lắc 1 giờ sau đó định lượng Cu dưới dạng phức màu của đồng với dietyldithiocarbaminat trong CCl_4.

– *Trình tự phân tích :* Cân trên cân phân tích 5g đất khô không khí đã rây qua rây 1 mm, cho mẫu vào bình tam giác nút nhám dung tích 100 ml. Thêm chính xác 50ml HCl 1N, lắc trên máy lắc 1 giờ sau đó lọc qua giấy lọc băng trắng.

Dùng pipet hút 10 – 25 ml dung dịch lọc (tùy thuộc hàm lượng đồng) cho vào phễu chiết 50 – 100 ml, thêm 5 ml dung dịch amoni xitrat 5%, 1 giọt phenolphtalein rồi thêm từng giọt amoniac đến khi dung dịch có màu hồng nhạt. Cho vào chính xác 15ml dung dịch chì đietylđithiocarbaminat trong CCl_4, lắc trên máy lắc 10 phút. Để dung dịch trong phễu phân lớp rồi rót lớp CCl_4 chứa phức của đồng với thuốc thử có màu vàng qua giấy lọc khô vào cuvet 2 cm. Đo màu với kính lọc màu 453 nm, dung dịch so sánh là CCl_4

Kết quả phân tích tính theo công thức

$$X = \frac{a}{b}$$

X : hàm lượng đồng trong đất mg/kg

a : lượng đồng trong thể tích lấy để phân tích, tìm thấy theo đường chuẩn μg.

b : khối lượng đất, tương ứng với thể tích lấy để phân tích (g).

– *Hóa chất.* Dung dịch chì đietylđithiocarbaminat trong CCl_4 : Lắc 664 mg natri đietylđithiocarbaminat với 1 lít CCl_4 trong phễu chiết ; thêm vào phễu dung dịch chì nitrat (489 mg $Pb(NO_3)_2$ hòa tan trong 100ml nước cất 2 lần). Lắc phễu 5 phút. Để cho phân lớp rồi lọc lớp CCl_4 có chì đietylđithiocarbaminat tan trong đó qua giấy lọc khô vào trong bình thủy tinh màu nâu. Dung dịch được giữ trong tủ lạnh.

Dung dịch chuẩn $CuSO_4$: Hòa tan 3,993g $CuSO_4.5H_2O$ đã kết tinh lại trong nước cất hai lần, định mức đến 1 lít, được dung dịch chứa 1 mgCu/ml. Pha loãng dung dịch này 100 lần (10 ml pha loãng đến 1 lít) thu được dung dịch chứa 0,01 mg Cu/ml ; lại pha loãng dung dịch đó 10 lần ta được dung dịch chứa 1 μg Cu/ml, sử dụng dung dịch này để pha thang chuẩn.

– *Thang đánh giá* (mg Cu/kg) :

Rất nghèo đồng :	0,3
Nghèo đồng :	0,3 – 1,5
Trung bình :	1,5 – 3,3
Cao :	> 3,3

b) Xác định đồng di động theo Vesterhoff. Hiện nay đã nhiều nước thừa nhận phương pháp xác định đồng di động trong dung dịch HNO_3 (dùng để chiết rút đồng) của Vesterhoff là phương pháp chuẩn.

– *Trình tự phân tích.* Lấy 10g đất cho vào bình tam giác 250ml, thêm vào 100ml HNO_3 (30ml HNO_3 d = 1,39 định thể tích đến 1 lít bằng nước cất hai lần), lắc 2 giờ rồi lọc. Lấy 25ml dung dịch lọc cho vào bình tam giác. Thêm vào 2 ml dung dịch $KMnO_4$ 0,5% và đun dung dịch đến sôi. Cho vào dung dịch nóng 0,5 ml axit oxalic 5% để làm mất màu dung dịch. Để dung dịch nguội rồi chuyển dung dịch vào phễu chiết 100ml (rửa bình tam giác bằng nước cất) và đưa thể tích đến 50ml. Cho

vào phễu chiết 1 ml dung dịch Na_3PO_4 bão hòa, 4ml dung dịch natri xitrat 50% và 4 ml dung dịch NH_4OH đặc (d = 0,92). Sau mỗi lần thêm thuốc thử vào đều phải lắc phễu chiết cẩn thận.

Cho vào chính xác 15ml dung dịch chì đietylđithiocarbaminat trong CCl_4, lắc phễu chiết 2 phút. Để cho phân lớp, lọc lớp chì đietylđithiocarbaminat trong CCl_4 qua phễu lọc khô vào cuvet chiều dày 2cm. Đo mật độ quang với kính lọc màu xanh lá cây (536 nm) ; CCl_4 là dung môi so sánh.

Đường chuẩn được xây dựng từ dung dịch có hàm lượng đồng là 10 μg Cu/ml. Để xây dựng đường chuẩn người ta cho vào các phễu chiết 0 ; 0,2 ; 0,5 ; 1,0 ; 2,0 ; 3,0 ; 4,0 ml dung dịch đồng, thêm nước cất 2 lần đến thể tích 50ml rồi tiếp tục xử lí như đối với dung dịch phân tích.

– *Thang đánh giá* (mg Cu/kg)

	Đất cát	Đất sét và sét pha
Tốt	> 3,5	> 2,5
Trung bình	2,1 – 3,5	1,6 – 2,5
Kém	< 2,0	< 1,5

3. Xác định mangan di động

a) Phương pháp Dobritxcaia

– *Nguyên lí phương pháp :* Phương pháp dựa trên quá trình chiết rút mangan di động bằng dung dịch H_2SO_4 0,1 N. Tỉ lệ giữa đất và dung dịch là 1 : 10. Thời gian tương tác là 1 giờ, oxi hóa mangan đến trạng thái hóa trị 7 bằng pesunfat khi có mặt bạc nitrat và axit photphoric

– *Trình tự phân tích :* Cân trên cân phân tích 5g đất khô không khí đã rây qua rây 1 mm. Cho lượng cân vào trong bình tam giác nút nhám dung tích 100ml ; thêm vào 50 ml H_2SO_4 0,1N ; lắc trên máy lắc 1 giờ, lọc dung dịch qua giấy lọc mịn băng trắng.

Lấy 10 – 15 ml dung dịch lọc cho vào cốc chịu nhiệt dung tích 50ml. Thêm vào đây 5ml HNO_3 đặc và 2ml H_2O_2 30% ; chưng trên bếp điện đến khô. Lặp lại quá trình oxi hóa bằng HNO_3 và H_2O_2 2 – 3 lần. Sau đó thêm 3ml HNO_3 và chưng đến khô. Thêm vào phần khô 25 ml H_2SO_4 10%. Đun trên bếp điện đến khi phần khô tan hoàn toàn, thêm vào cốc 15 ml nước, 2ml H_3PO_4 (d = 1,7) và 2ml $AgNO_3$ 1%, đun 5 – 10 phút ; nếu thấy đục thì cần tiếp tục đun đến sôi rồi lọc dung dịch qua giấy lọc băng xanh. Thêm vào dung dịch nóng trong cốc khoảng 2g amoni pesunfat (thêm làm vài lần) khuấy dung dịch cẩn thận bằng que thủy tinh đặt cốc lên trên bếp điện, đun 10 – 15 phút để oxi hóa nhanh và hoàn toàn mangan đến axit manganic, khi đó xảy ra quá trình phân hủy mãnh liệt amoni pesunfat và có khí ozon thoát ra. Sau khi hết khí thoát ra, lấy cốc ra khỏi bếp, để nguội, chuyển dung dịch vào bình định mức 50ml. Thêm nước cất 2 lần đến vạch mức. Đo mật độ quang trong cuvet 1 cm hay 2cm tại bước sóng 536 nm, dung dịch H_2SO_4 5% dùng làm dung dịch so sánh.

Đường chuẩn được xây dựng từ dung dịch $KMnO_4$ 0,1N (từ ống chuẩn). Lấy 10 ml dung dịch này cho vào bình định mức 100ml, thêm nước cất hai lần đến vạch mức, khuấy đều. Từ dung dịch mới pha này lấy 10ml cho vào bình định mức 100ml rồi thêm nước cất hai lần đến vạch mức. Dung dịch này có nồng độ 0,001 N. Trong 1ml dung dịch này chứa 11 μg mangan. Dùng pipet lấy 2 ; 5 ; 10 ; 20 ; 25 ml dung dịch $KMnO_4$ 0,001N cho vào các bình định mức 50ml. Thêm nước đến vạch mức và đo mật độ quang ngay với kính lọc màu xanh lá cây (536 nm), dùng cuvet có chiều dày như khi đo với dung dịch phân tích.

Kết quả phân tích tính theo công thức

$$X = \frac{a \cdot 11}{b}$$

X : hàm lượng Mn trong đất mg/kg

a : lượng dung dịch $KMnO_4$ 0,001N nhận được theo đường chuẩn đối với thể tích dung dịch thí nghiệm lấy để phân tích (ml)

b : khối lượng đất, tương ứng với thể tích dung dịch thí nghiệm lấy để phân tích (g)

11 : hàm lượng mangan tính theo μg trong 1 ml dung dịch $KMnO_4$ 0,001 N.

b) Xác định mangan di động theo Schachtschabel. Để đánh giá hàm lượng mangan di động trong đất, Schachtschabel (1957) đề nghị tiến hành xác định mangan tan trong sunfit và mangan dễ được khử.

– Xác định mangan tan trong dung dịch sunfit : Cân 5gam đất đã rây qua rây 1 mm cho vào bình tam giác 250ml thêm vào đây 0,2g than hoạt tính và 50ml dung dịch chiết rút, lắc trên máy lắc 1 giờ. Sau đó lọc dung dịch qua giấy lọc băng trắng, khô. Để phân tích có thể sử dụng những phần dung dịch lọc đầu tiên. Lấy 15 – 20 ml dung dịch lọc cho vào bình định mức 50ml, để che ảnh hưởng khử của clo và để tạo phức với ion sắt, thêm vào bình 2,5ml hỗn hợp gồm thủy ngân sunfat, axit nitric, bạc nitrat và axit photphoric. Sau đó để oxi hóa mangan lên trạng thái hóa trị 7 người ta thêm vào 2g amoni pesunfat. Đặt bình với dung dịch vào trong máy ổn nhiệt 20 – 30 phút ở nhiệt độ 90 – 95°C đến khi ngừng thoát bọt khí. Nếu dung dịch có màu nâu thì cần phải lấy những phần dịch lọc mới (5 – 10 ml) rồi lặp lại quá trình xử lí như trên. Dung dịch sau khi nguội được thêm nước đến vạch mức rồi đo màu như đã mô tả ở trên.

– Hóa chất :

Dung dịch chiết rút : Cân 123,3g $MgSO_4.7H_2O$ và 2g Na_2SO_3 hòa tan trong nước rồi định thể tích đến 1 lít bằng nước.

Dung dịch thủy ngân sunfat : hòa tan 75g Hg_2SO_4 trong 400ml HNO_3 (d = 1,4) và 300 ml H_3PO_4 (d = 1,7) thêm vào 0,2g $AgNO_3$ và dùng nước cất đưa thể tích đến 1 lít.

– Xác định mangan dễ khử (pH = 8,0). Quá trình chiết rút mangan tiến hành bằng dung dịch magie sunfat có thêm 2g hiđroquinon trong 1 lít dung dịch. Tất cả quá trình chiết rút và xác định mangan sau này tiến hành như khi xác định mangan tan trong dung dịch sunfit.

– *Thang đánh giá Mn dễ khử ở pH = 8,0*

Nghèo	< 20 mg/kg (ppm)
Trung bình	20 – 30 mg/kg
Giàu	> 30 mg/kg

4. Xác định kẽm di động

Kẽm di động được chiết rút từ đất bằng dung dịch kali clorua 1N. Phương pháp chỉ sử dụng cho đất axit. Tỉ lệ giữa đất : dung dịch là 1 : 10, lắc 1 giờ trên máy. Cuối cùng xác định kẽm bằng phương pháp đo màu dưới dạng phức với đithizon theo màu đơn.

– *Trình tự phân tích :* Cân trên cân phân tích 2,5g đất khô không khí đã rây qua rây 1 mm, cho mẫu vào chén thạch anh dung tích 50ml. Thêm vào 25 ml dung dịch KCl 1 N, lắc trên máy lắc 1 giờ rồi lọc qua phễu lọc thạch anh, dùng giấy lọc băng trắng đã tinh chế khỏi các vết nguyên tố vi lượng.

Lấy 5 ml dung dịch lọc cho vào phễu chiết 50ml, thêm vào 2 giọt chỉ thị metyl da cam, tiến hành trung hòa bằng dung dịch natri axetat 5% đến khi chỉ thị chuyển sang màu vàng, lại thêm vào 0,2 ml dung dịch natri axetat 5% và 2 ml dung dịch thiosunfat 50%. Chiết kẽm 2 lần bằng dung dịch đithizon 0,02% trong CCl_4, lần đầu dùng 2 ml, lần sau 1 ml. Sau mỗi lần thêm đithizon, phễu chiết được lắc trên máy 3 phút, giữ yên cho tách tướng rồi rót tướng hữu cơ vào phễu chiết sạch khác. Chiết lại tướng nước bằng dung dịch đithizon mới ; dung dịch đithizon cũng được rót vào phễu chiết sạch trên.

Thêm vào phễu chiết chứa kẽm đithizonat 25ml dung dịch amoniac 0,01N, lắc 1 – 2 phút. Lớp kẽm đithizonat có màu được chuyển vào bình định mức khô 25 ml rồi thêm CCl_4 đến vạch mức. Đo mật độ quang trong cuvet chiều dày 1 cm, tại bước sóng 536 nm, dung dịch so sánh là CCl_4.

Để xây dựng thang chuẩn cho vào các phễu chiết 0 ; 0,5 ; 1 ; 2 ; 3 ; 4 ; 5 ml dung dịch kẽm có nồng độ 1 μg Zn/ml ; thêm nước cất đến 5ml rồi cho vào 2 giọt metyl da cam và tiến hành phân tích như đối với dung dịch thí nghiệm.

Kết quả phân tích tính theo công thức :

$$X = \frac{a}{b}$$

X : hàm lượng kẽm di động trong đất mg/kg

a : lượng kẽm trong thể tích lấy để phân tích, tìm thấy theo đường chuẩn μg

b : khối lượng đất tương ứng với thể tích mẫu lấy để phân tích (g).

– *Hóa chất.* Tất cả các hóa chất dùng để xác định kẽm đều phải tinh chế cẩn thận bằng đithizon.

Dung dịch chuẩn kẽm : Cân 0,2g kẽm kim loại tinh khiết trên cân phân tích cho vào bình định mức 1 lít và hòa tan trong lượng nhỏ nước cất hai lần có 1 ml H_2SO_4 đặc (d = 1,84). Sau khi tất cả kẽm đã hòa tan, dùng nước cất hai lần đưa thể tích đến vạch mức. Trong 1 ml dung dịch này chứa 200 μg kẽm. Pha loãng dung dịch này 200 lần được dung dịch chứa 1 μg Zn/ml.

– *Thang đánh giá* (mgZn/kg) :

Rất nghèo	< 0,2
Nghèo	0,2 – 1,0
Trung bình	2 – 3
Giàu	4 – 5
Rất giàu	> 5

– *Ghi chú :* Đối với đất ngập nước có thể dùng HCl 0,05N làm dung dịch chiết rút : 10g đất và 20ml HCl 0,05 N. Lắc 5 phút rồi lọc.

5. Xác định coban di động

Phương pháp dựa trên quá trình chiết coban di động trong đất bằng HNO_3 1N. Tỉ lệ giữa đất : dung dịch là 1 : 10, lắc trên máy lắc 1 giờ. Xác định coban bằng phương pháp đo màu dưới dạng phức màu với muối nitrozo–R.

– *Trình tự phân tích :* Cân 10g đất khô không khí đã rây qua rây 1 mm trên cân phân tích, cho mẫu vào bình tam giác nút nhám dung tích 250ml. Thêm vào chính xác 100ml HNO_3 1N lắc trên máy lắc 1 giờ, lọc qua giấy lọc băng trắng.

Lấy 25 ml dung dịch lọc cho vào cốc thủy tinh chịu nhiệt, thêm vào 1 ml HNO_3 đặc, 1 ml H_2O_2 chưng trên bếp điện đến khô. Quá trình xử lí này được lặp lại một lần nữa và chưng dung dịch đến khi bắt đầu kết tinh muối. Rót vào cốc 6ml nước cất 2 lần đã axit hóa bằng HCl (1 : 10), đun dung dịch đến sôi. Thêm vào 1 ml dung dịch natri xitrat 40% và đun sôi khoảng 1 phút, pH của dung dịch cần phải lớn hơn 5,5 (kiểm tra theo giấy chỉ thị vạn năng). Nếu chưa đạt đến giá trị mong muốn, có thể dùng natri xitrat để điều chỉnh. Thêm vào dung dịch phân tích 1 ml dung dịch muối nitrozo – R 0,05% rồi đun sôi. Nếu dung dịch phân tích có màu đỏ vàng thì thêm tiếp 1 ml dung dịch muối nitrozo – R nữa, 5 ml nước cất 2 lần rồi đun dung dịch đến sôi. Để dung dịch nguội, thêm vào 3 ml hỗn hợp H_3PO_4 và HNO_3 (5 phần H_3PO_4 85% và 1 phần HNO_3 đặc), khuấy dung dịch nhanh và cẩn thận. Chuyển dung dịch vào bình chia độ rồi pha loãng dung dịch bằng nước cất 2 lần sao cho cứ 1 ml muối nitrozo – R thì thể tích được pha loãng đến 10 ml. Đo phức màu của phức coban với muối nitrozo – R trong cuvet 2cm, kính lọc màu xanh lá cây (536 nm), dung dịch so sánh là nước cất hai lần.

Thang chuẩn được chuẩn bị như sau : Cân 0,4770g $CoSO_4 . 7H_2O$ cho vào cốc và hòa tan bằng nước cất hai lần. Chuyển dung dịch vào bình định mức 1 lít, axit hóa bằng 1 ml H_2SO_4 (d = 1,84) rồi thêm nước cất 2 lần đến vạch mức.

Dung dịch nhận được chứa 100 μg Co/ml. Lấy 50 ml dung dịch này pha loãng bằng nước cất 2 lần đến thể tích 500 ml được dung dịch chứa 10 μg Co/ml, chúng ta được dung dịch chuẩn sử dụng. Lấy các thể tích 0,5 ; 1; 2 ; 3 ; 4 ; 5 ; 6 ; 7 ; 8 ; 9 ml dung dịch chuẩn sử dụng cho vào bình định mức 100 ml. Thêm nước cất 2 lần đến thể tích 50 ml, thêm 5 ml dung dịch natri xitrat 20% và 5 ml dung dịch natri axetat 40%, thêm 10 ml dung dịch muối nitrozo – R 0,05% rồi đun đến sôi.

Để nguội, thêm vào 5ml hỗn hợp HNO_3 và H_3PO_4, định mức đến vạch mức bằng nước cất hai lần. Tiến hành đo mật độ quang như đối với dung dịch phân tích.

Kết quả phân tích được tính theo công thức :

$$X = \frac{a \cdot b}{N}$$

X : hàm lượng coban trong đất (mg/kg).

N : lượng đất tương ứng với thể tích dung dịch lấy để phân tích (g).

a : lượng coban tìm thấy theo đồ thị chuẩn μg/ml.

b : thể tích dung dịch so màu (ml).

– *Hóa chất :*

Axit nitric tinh khiết hóa học : Lấy 68,9ml HNO_3 đặc (d = 1,40) thêm nước cất 2 lần đến 1 lít được dung dịch HNO_3 1N.

Natri xitrat 3 lần thế (dung dịch nước 20%)

Natri axetat 40%.

Muối nitrozo – R (dung dịch nước 0,05%).

Hỗn hợp axit nitric và octhophotphoric : Hỗn hợp 2 axit trên theo tỉ lệ 100 ml H_3PO_4 và 20 ml HNO_3.

H_2O_2.

6. Xác định molipđen di động

Phương pháp so màu của Grigg (theo Dobritxcaia – 1969)

Cân mẫu đất đã rây qua rây 1mm với lượng : 15g đối với đất sét, 25g đối với đất cát và cát pha ; cho mẫu vào bình nút nhám, rót vào 150ml hay 250ml (tương ứng với lượng mẫu là 15g và 25g) dung dịch đệm oxalat của Grigg có pH = 3,3, lắc dung dịch 1 giờ. Lọc dung dịch qua giấy lọc băng trắng, lấy 125ml hay 200ml dung dịch cho vào cốc chịu nhiệt rồi cho dung dịch bay hơi tới khi thể tích dung dịch còn 1/4. Để phá hủy các oxalat và chất hữu cơ trong dịch lọc người ta thêm vào cốc 3ml H_2O_2 30% và 3ml HNO_3 đặc, tiếp tục chưng đến khô. Lặp lại quá trình xử lí này 3 – 4 lần, mỗi lần đều chưng mẫu đến khô. Sau đó thêm vào phần khô 5ml HCl 22% và 2ml $HClO_4$ (30–35%). Để tách crôm và phá hủy chất hữu cơ hoàn toàn hơn cần chưng dung dịch đến khô. Thêm vào 5ml nước cất 2 lần rồi chưng khô để tách hết vết axit percloric. Thêm vào tiếp 5ml HCl 22% để chuyển muối sang dạng clorua rồi lại chưng dung dịch đến khô. Hòa tan phần khô bằng cách đun nóng trong 11ml HCl 22%, chuyển dung dịch vào bình định mức 50ml, thêm vào 15ml dung dịch NaF 4% (để tạo phức với nhôm, sắt và titan), 5ml dung dịch natri nitrat 20% (để ngăn ngừa việc khử molipđen đến hóa trị thấp hơn +5), thêm nước cất đến vạch mức, khuấy đều dung dịch. Chuyển toàn bộ dung dịch vào phễu chiết 100ml, rửa thành bình bằng 2 – 3ml nước, rồi rót cả vào phễu chiết trên. Thêm vào phễu chiết 4ml kali thioxianat 20% (để tạo thành phức molipđen thioxianat), lắc đều, cho vào phễu 3 – 4ml dung dịch $SnCl_2$ 10%, lắc phễu và sau khi màu đỏ nâu của phức sắt –

thioxianat hoàn toàn mất (Fe^{3+} chuyển thành Fe^{2+}) thì cho vào phễu chiết 20ml dung dịch rượu n-butilic (đã được rửa trước bằng nước và dung dịch thiếc clorua bão hòa) và để chiết phức molipđen thioxianat cần lắc mạnh phễu chiết 1 phút. Để cho phân lớp rồi rót lớp nước phía dưới phễu chiết ra ngoài nhưng giữ lại khoảng 1ml lớp nước. Phần chiết trong phễu có thể lại có màu hồng do một phần Fe^{2+} đã được oxi của không khí oxi hóa chuyển thành Fe^{3+}, vì thế cần phải rửa tiếp phần chiết bằng dung dịch muối thiếc bằng cách cho vào phễu chiết có phần chiết 20ml dung dịch muối thiếc mới pha (2ml $SnCl_2$ 10% + 18ml nước), lắc đều phễu chiết. Sau khi phần chiết hoàn toàn mất màu hồng thì rót bỏ lớp nước, còn phần chiết trong tướng hữu cơ cho vào cuvet 3cm. Thêm vào cuvet 1ml rượu êtilic để loại những giọt nước còn lẫn và 1 – 2 giọt dung dịch muối thiếc, khuấy dung dịch trong cuvet cẩn thận bằng que thủy tinh nhỏ. Phần chiết lúc này sẽ trở nên trong suốt, không có màu hồng, đem đo mật độ quang của phần chiết với kính lọc màu xanh nước biển (435nm) (chỉ tiến hành đo mật độ quang ít nhất là sau 20 – 30 phút kể từ khi thêm rượu n – butilic). Dung dịch so sánh là rượu n-butilic, không xử lí bằng thiếc và nước.

Đường chuẩn được xây dựng như sau : Cho vào các bình định mức 50ml các thể tích : 0,5 ; 1,0 ; 2,0 ; 3,0 ; 4,0 và 5,0ml dung dịch molipđen chuẩn có hàm lượng 1μg Mo/ml ; thêm vào mỗi bình 11ml HCl 6N, 3ml $FeCl_3$ có hàm lượng 5mg Fe^{3+}/ml, khuấy cẩn thận các bình này rồi thêm vào mỗi bình 15ml dung dịch NaF 4% ; 5ml dung dịch natri nitrat, lại khuấy rồi thêm nước cất đến vạch mức. Sau đó tiến hành như đối với dung dịch phân tích.

– *Hóa chất :*

Dung dịch đệm oxalat : hòa tan 25g amoni oxalat và 12,6g axit oxalic trong nước cất 2 lần khi đun nóng rồi thêm nước cất đến 1 lít.

Axit clohiđric 22% (6N, d = 1,1) : Cất hỗn hợp gồm 550ml HCl đặc và 450ml nước cất 2 lần trong dụng cụ cất làm bằng thủy tinh, thu được 500ml HCl 22%.

Thiếc (II) clorua 10% : Nung chảy thiếc kim loại trong chén sứ và nghiền nhanh bằng chày sứ đến khi nhận được bột thiếc mịn. Cân 5,3g bột này và hòa tan khi đun nóng trong 20ml HCl 6N. Dung dịch nên chuẩn bị trước khi dùng. Có thể chuẩn bị dung dịch này từ muối $SnCl_2$ tinh khiết hóa học bằng cách hòa tan 10g muối này khi đun nóng trong 20ml HCl 6N, sau đó thêm một ít thiếc kim loại.

Rượu n-butilic : Rửa n-butilic bằng nước cất 2 lần để loại hết chất oxi hóa có trong đó, cho 250ml rượu vào trong phễu chiết lớn, thêm vào 250ml nước cất 2 lần, lắc 1 phút, sau khi tách tướng, rót lớp nước phía dưới, còn lớp rượu tiến hành bão hòa bằng thiếc (II) clorua (cứ 100ml rượu butilic thêm vào 10ml $SnCl_2$ 10%, lắc 3 – 5 phút ; thêm vào 5ml rượu êtilic, khuấy đều).

Dung dịch chuẩn molipđen : Hòa tan muối amoni molipđat tinh khiết trong NH_4OH đặc khi đun nóng liên tục (ở mọi thời điểm dung dịch đều phải có phản ứng kiềm) sau đó làm lạnh rồi kết tủa amoni molipđat bằng rượu etilic, cho kết tủa vào giữa những tờ giấy lọc để làm khô muối.

Lấy 5-6g muối đã kết tinh cho vào chén sứ rồi nung trong lò nung ở nhiệt độ 450-480°C trong thời gian 40-60 phút.

Cân 1,5g MoO_3 mới nhận được rồi hòa tan trong 10ml NaOH 1N, thêm vào dung dịch 10ml HCl 22%, dùng nước cất hai lần định mức đến 1 lít. Ta được dung dịch chứa 1mg Mo/ml. Pha loãng dung dịch này 1000 lần, được dung dịch chuẩn sử dụng.

- *Chú thích :*

+ Có thể tách chất hữu cơ ra khỏi dung dịch phân tích bằng cách chưng thể tích mẫu đến khô trên bếp cách thủy sau đó đặt chén sứ với phần khô vào trong lò nung, nung ở 450°C trong 4 giờ.

+ Có thể dùng ete (tinh khiết hóa học) thay cho rượu n-butilic để chiết phức của molipđen với thioxianat.

7. Xác định dạng di động của đồng, kẽm, coban, mangan khi chiết rút các nguyên tố này trong đất bằng dung dịch đệm amoni axetat

Phương pháp dựa trên sự chiết rút Cu, Co, Zn và Mn bằng dung dịch amoni axetat (pH = 4,8). Tỉ lệ giữa đất : dung dịch chiết rút là 1 : 5. Thời gian lắc trên máy lắc là 30 phút (Crupxky, 1964). Phương pháp này dùng cho đất cacbonat và không cacbonat.

a. Chuẩn bị dung dịch đệm : Dung dịch được chuẩn bị từ axit axetic và amoniac. Pha loãng 108ml axit axetic đặc (98%) bằng nước cất 2 lần đến thể tích 600-700ml, thêm vào 75ml NH_4OH 25%, khuấy đều ; sau khi nguội đưa thể tích dung dịch đến 1 lít. Kiểm tra pH của dung dịch bằng pH - met. Axit axetic và amoniac dùng để chuẩn bị dung dịch đệm cần phải tinh chế khỏi vết các nguyên tố vi lượng. Axit axetic được cất trong bình thủy tinh có sinh hàn nhám. Khi cất, cần thêm một lượng vừa phải natri axetat khan vào bình cất. Nồng độ axit được kiểm tra theo tỉ trọng.

Để tinh chế amoniac khỏi vết các kim loại, người ta rót NH_4OH 25% vào đáy bình hút ẩm lớn, phần trên bình hút ẩm đặt các cốc thủy tinh lớn đã được rót vào nước cất 2 lần đến 1/2 thể tích cốc. Đậy nắp bình hút ẩm và giữ yên ít nhất là 48 giờ. Để nhận được amoniac có nồng độ cao hơn cần xử lí nước bão hòa amoniac một lần nữa bằng cách thay dung dịch amoniac trong bình hút ẩm bằng dung dịch amoniac 25% mới. Nếu xử lí nước bão hòa amoniac 2 lần có thể nhận được amoniac có nồng độ 20%. Kiểm tra tỉ trọng dung dịch amoniac nhận được, tính lượng amoniac, axit axetic cần thiết để pha dung dịch đệm theo tỉ lệ đã nêu trên.

b) Chiết rút các nguyên tố vi lượng. Cân trên cân phân tích 50g đất đã rây qua rây 1mm cho lượng cân trên vào bình tam giác nút nhám thể tích 500ml, cho vào chính xác 250ml dung dịch đệm amoni axetat, lắc trên máy lắc 1 giờ. Lọc qua giấy lọc băng trắng. Lấy 150ml dung dịch lọc cho vào bát sứ, cho vào bát 10ml HNO_3 (d = 1,4), 10ml H_2O_2 30% rồi chưng dung dịch trong bát trên bếp cách thủy đến trạng thái sệt. Thêm vào 2ml HNO_3, 2ml H_2O_2 rồi chưng đến khô. Hòa tan phần khô trong 50ml nước cất 2 lần (có 3 - 4ml HCl cất lại 2 lần) khi đun nóng. Lọc dung dịch nhận được vào bình định mức 100ml, rửa giấy lọc bằng nước cất 2 lần đã được axit hóa bằng HCl. Dùng nước cất 2 lần đưa thể tích dung dịch đến vạch

mức và lấy dung dịch này để xác định các nguyên tố vi lượng. Nếu xác định Zn, cần chuẩn bị phần dịch chiết rút riêng trong dụng cụ thạch anh. Sau đó định lượng theo các phương pháp đã nêu.

8. Xác định chì (Pb^{2+}) trong đất

Hàm lượng chì trung bình trong các đất của Liên Xô (cũ) là $1,2.10^{-3}\%$ (12 mg/kg), trong thực vật $5.10^{-5}\%$, trong đất ở Ôxtrâylia : 10 – 130 ppm ; ở Trung Quốc là 25 ppm, trong các đất ở Mĩ 17 – 26 ppm. Hàm lượng chì cao hơn ở trong đất thường liên quan đến đất bị ô nhiễm do hoạt động sản xuất của con người.

Chỉ có các muối $Pb(NO_3)_2$ và $Pb(CH_3COO)_2$ tan trong nước. Trong dung dịch axit clohidric, chì (II) nằm ở dạng phức với anion clorua $[PbCl_3]^-$. Trong các dung dịch axit yếu, chì bị thủy phân và ở pH cao hơn 7, chì ở dưới dạng kết tủa hidroxit màu vàng nâu ; trong môi trường kiềm dư bị hòa tan tạo thành ion $Pb(OH)_4^{2-}$. Vì vậy trong quá trình phân tích cần lưu ý khả năng thủy phân của Pb (II).

Chì cũng bị giấy lọc và các dụng cụ thủy tinh hấp phụ mạnh, trong các dung dịch axit khi có mặt H_2O_2 sự hấp phụ Pb giảm đi đáng kể.

Phương pháp xác định :

– *Phân hủy đất*

Phân hủy đất bằng axit : Khi xác định Pb trong đất người ta xử lí mẫu bằng axit HF cùng axit HNO_3 hay $HClO_4$. Quá trình phân hủy tiến hành trong lò nung (để phân hủy chất hữu cơ), tại nhiệt độ không vượt quá 500°C để tránh mất nguyên tố vi lượng do bay hơi.

Để phân hủy mẫu đất và mẫu quặng người ta cũng sử dụng hỗn hợp HNO_3 và các chất oxi hóa như H_2O_2, $HClO_4$, $KClO_3$. Khi xử lí bằng hỗn hợp này các chất hữu cơ bị khoáng hóa, các hợp chất khó tan của chì hoàn toàn chuyển sang dạng dung dịch. Quá trình phân hủy tiến hành trong bình Kendan với sinh hàn không khí dưới dạng ống thủy tinh.

Phân hủy bằng phương pháp nung chảy : Để phân hủy mẫu đất khi xác định chì, có thể sử dụng hỗn hợp Na_2CO_3 + MgO (1 : 2) hoặc hỗn hợp Na_2CO_3 + ZnO (1 : 4). Quá trình phân hủy tiến hành tại nhiệt độ không cao quá 700 – 800°C trong thời gian 1,5 – 2 giờ. Làm lạnh rồi hòa tan trong nước nóng, lọc. Chì chuyển vào trong nước dưới dạng $Pb(OH)_4^{2-}$.

– *Xác định chì*

Để xác định một lượng nhỏ chì, thường sử dụng phương pháp chiết trắc quang với thuốc thử đithizon. Trong môi trường trung tính hoặc kiềm yếu đithizon tạo với ion Pb (II) thành hợp chất chì đithizonat. Trong các dung môi hữu cơ chì đithizonat có màu đỏ. Độ tan của chì (II) đithizonat trong $CHCl_3$ cao gấp 17 lần so với trong CCl_4.

Hệ số hấp thụ phân tử bằng $6,86.10^4$, hấp thụ cực đại ở bước sóng 520nm ; giới hạn phát hiện của phương pháp là 0,05 μg Pb/ml. Định luật Bia được tuân theo đến khoảng nồng độ 70 μg Pb trong 50ml CCl_4.

Điều kiện thích hợp để chiết phức là tại pH 8 – 10. Tại môi trường kiềm lớn hơn 10,5 và trong môi trường axit pH < 3,5 nếu tiến hành chiết trong $CHCl_3$ (hay tại pH < 4,5 – nếu chiết bằng CCl_4) chì đithizonat sẽ bị phá hủy và chì sẽ chuyển sang tướng nước.

Trình tự phân tích :

Cân 2,5g đất nghiền đến trạng thái bột mịn cho vào bình Kenđan, thêm vào đây 15ml HNO_3 đặt và vài giọt H_2O_2, đậy bình bằng phễu thủy tinh cuống dài dùng làm sinh hàn. Đun nóng nhẹ đến khi xuất hiện các oxit của nitơ. Để nguội bình rồi thêm tiếp những phần HNO_3 và H_2O_2 mới tiến hành đun cho đến khi mẫu đất trở nên trắng. Xử lí mẫu bằng HCl và lọc vào cốc thủy tinh chịu nhiệt. Chưng dung dịch lọc đến khô, thêm vào cốc HCl 1 :1, đun đến 80 – 90°C, lọc và rửa phần không hòa tan của đất. Cho dung dịch lọc vào bình định mức và định mức bằng nước cất đến vạch mức.

Lấy một thể tích dung dịch trên cho vào phễu chiết, thêm 5 – 10ml amonixitrat 10% và 1 – 2 giọt chỉ thị thimol xanh. Dùng amoniac trung hòa dung dịch đến pH 9 – 10 (chỉ thị có màu xanh). Sau đó thêm 5ml dung dịch đithizon 0,001% trong CCl_4 rồi lắc đều phễu. Sau khi phân lớp rót phần hữu cơ vào phần chiết khác. Tiến hành chiết lại chì trong mẫu đến khi màu của đithizon không thay đổi. Gộp toàn bộ phần chiết. Thêm vào phễu chiết có hỗn hợp các đithozinat của các kim loại 10ml HCl 0,02N và lắc mạnh để chuyển chì sang tướng nước ; chuyển phần tướng nước vào phễu chiết khác. Rửa phần hữu cơ bằng nước và nước rửa này cũng gộp vào phễu chiết chứa dung dịch chì.

Thêm vào dung dịch chứa chì 5ml amoniaxitrat 10% và trung hòa bằng amoniac đến pH 9. Thêm 1ml KCN 5%, 5ml dung dịch đithizon 0,001% trong CCl_4 và lắc mạnh. Sau khi phân lớp, rót phần hữu cơ vào bình định mức dung tích 25 – 50ml (hoặc ống nghiệm chia độ) và lặp lại quá trình chiết chì đến khi màu của đithizon không thay đổi. Định mức thể tích đến vạch mức bằng CCl_4. Lắc đều. Đo màu ở bước sóng 520nm. Dung dịch so sánh là CCl_4.

Hóa chất

+ Dung dịch chuẩn gốc : 0,1 mg Pb/ml. Hòa tan 0,1598g $Pb(NO_3)_2$ đã kết tinh lại và xấy khô ở 110°C trong nước, thêm 1ml HNO_3 và thêm nước cất đến vạch mức.

+ Dung dịch chuẩn sử dụng : 1μg Pb/ml.

+ Dung dịch đithizon 0,001% trong CCl_4.

Dung dịch gốc : Hòa tan 0,4g đithizon trong 200ml CCl_4. Chuyển dung dịch vào phễu chiết 1,5 – 2 lít, thêm vào đây 500ml NH_4OH loãng (1 : 200), lắc 3 – 5 phút. Loại bỏ phần tướng hữu cơ. Rửa phần nước một vài lần bằng CCl_4, mỗi lần 5 – 10ml ; cho đến khi CCl_4 có màu xanh ; sau đó thêm vào phễu chiết 12,5ml H_2SO_4 1 : 5 lắc đều. Thêm 400ml CCl_4 và lắc phễu, rửa dung dịch này vài lần bằng nước cất 2 lần để tách hết lượng axit dư (thường là 2 – 3 lần). Lọc dung dịch đithizon qua giấy lọc khô (giấy lọc đã được rửa bằng HCl và nước cất hai lần) vào trong lọ thủy tinh màu nâu. Dung dịch được giữ trong tủ lạnh – ta được dung dịch đithizon 0,1%.

Từ dung dịch này pha loãng bằng CCl_4 ta được dung dịch đithizon sử dụng.

9. Xác định thủy ngân (Hg^{2+}) trong đất

Thủy ngân từ khí quyển khi xâm nhập vào đất sẽ bị các chất hữu cơ và các hiđroxit của các kim loại hút thu ; mangan hiđroxit có khả năng hút thu thủy ngân mạnh nhất.

Theo Vinagradova A.P hàm lượng thủy ngân trong đất là : 1 – 14.10^{-6}%, theo Glađuseva V.P và các cộng sự hàm lượng thủy ngân trong đất dao động trong giới hạn 1.10^{-7} – 1.10^{-6}%. Hàm lượng trung bình của thủy ngân trong thủy quyển là 0,03 μg/l, trong thực vật : $n.10^{-5}$ – $n.10^{-7}$%. Trong đất ở pH khoảng 6, thủy ngân bị cố định chặt nhất.

Thường hay phân tích hợp chất thủy ngân (II). Các hợp chất này tan tốt trong nước nhưng cũng bị thủy phân mạnh. Khi pH > 5 sẽ xuất hiện dưới dạng HgO kết tủa màu vàng, khi pH > 11,5 bắt đầu bị hòa tan. Hợp chất của thủy ngân với halogen $[Hghal]^+$ ... $[Hg(hal)_4]^{2-}$ là những hợp chất dễ bay hơi. Hg^{2+} còn tham gia tạo phức với các anion CN^-, SCN^-, $S_2O_3^{2-}$, NO_2^- hoặc với NH_3.

Hg có thể bị hấp phụ bởi dụng cụ thủy tinh, polietilen, teflon cũng hấp phụ một lượng nhỏ thủy ngân. Thủy tinh pirec, thạch anh, hấp phụ thủy ngân ít nhất. Để làm giảm khả năng hấp phụ cần phải xử lí trước thủy tinh bằng HNO_3 đặc và rửa nước hoặc bằng dung dịch cromic.

– *Phương pháp xác định*

Phân hủy đất : Có thể dùng phương pháp thiêu kết hoặc xử lí mẫu bằng axit. Trong phương pháp thiêu kết không dùng các muối cacbonat của kim loại kiềm vì khi đó có thể mất hoàn toàn thủy ngân. Để xác định thủy ngân người ta dùng phương pháp thiêu kết trong các điều kiện khử khi đó thủy ngân sẽ được khử đến kim loại rồi cất trong dụng cụ đặc biệt, thường sử dụng canxi oxit và bột sắt, chì oxit, chì oxit và canxi nitrat làm chất thiêu kết. Hg thu được sẽ được hòa tan trong HNO_3.

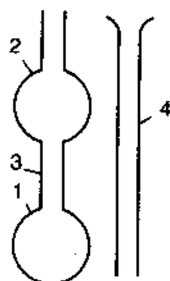
Trong phương pháp xử lí mẫu bằng axit người ta thường dùng H_2SO_4 khi có mặt chất oxi hóa như HNO_3, các muối nitrat hoặc $KMnO_4$. Quá trình phá mẫu khi đun nóng cho đến khi mẫu trở nên trắng, sau đó loại chất oxi hóa còn dư bằng cách thêm vào các chất khử như ure, formalin. Để phân hủy mẫu thực vật hoặc các đối tượng sinh học khác người ta dùng hỗn hợp H_2SO_4 và $HClO_4$ khi có mặt natri molipđat. Để đẩy nhanh quá trình phân hủy người ta tẩm ướt mẫu trước bằng dung dịch HNO_3 đặc.

Trong môi trường axit khi có dư thuốc thử, đithizon phản ứng với Hg (II) tạo thành phức $Hg(HDZ)_2$ tan trong các dung môi hữu cơ. Dung dịch thủy ngân (II) đithizonat trong $CHCl_3$ và CCl_4 có màu vàng – da cam ; hấp thụ cực đại ở bước sóng 485nm. Hệ số hấp thụ phân tử bằng $7,1.10^4$; định luật Bia tuân theo trong khoảng nồng độ đến 50 μg Hg trong 50ml dung dịch chiết.

Điều kiện thích hợp để tạo phức và chiết phức là trong dung dịch H_2SO_4 0,5 – 1N hay HNO_3 0,5 – 1N.

- *Trình tự phân tích*

Thiêu hủy 1 gam đất đã nghiền đến trạng thái bụi bằng hỗn hợp PbO_2 + $Ca(NO_3)_2$ trong dụng cụ ở hình 30 : 1g đất được mài mịn trong cối với 2g PbO_2 và 0,15g $Ca(NO_3)_2$ đã làm khô trước trong bình hút ẩm. Cho hỗn hợp vào phần 1 của dụng cụ và đun nóng, lúc đầu đun nhẹ ở phần trên ngọn lửa đèn khí và sau đó nung đỏ. Khi thiêu kết dụng cụ được đặt hơi nghiêng. Sau 5 - 6 phút nung nóng, di chuyển ngọn lửa đèn khí đến 3, đốt nóng phần này sau đó lại chuyển xuống dưới, làm lạnh. Hòa tan thủy ngân đã thăng hoa trong 1ml HNO_3 1 : 1 rồi chuyển dung dịch vào phễu chiết. Rửa ống nghiệm một vài lần bằng nước cất rồi gộp cả vào phễu chiết trên. Pha loãng dung dịch bằng nước cất đến nồng độ HNO_3 1N. Sau đó rót vào phễu, dung dịch $KMnO_4$ 0,1N đến khi dung dịch có màu hồng rồi lắc đều. Sau 1, 2 phút khử lượng MnO_4^- còn dư bằng 1,2 giọt H_2O_2 3%. Sau đó thêm vào phễu chiết 1ml dung dịch complexon III 1%, 4ml Na_2SO_3 20% lắc đều. Thêm vào phễu chiết 4 ml dung dịch đithizon 0,0005% trong $CHCl_3$ và lắc phễu chiết 1 phút. Tiến hành chiết đithizonat đến khi đithizon không đổi màu. Sau khi tách lớp, rót phần chiết vào cuvét và đo mật độ quang ở bước sóng 485nm ; dung dịch không là dung dịch so sánh.



Hình 30 – Dụng cụ để thiêu hủy mẫu xác định thủy ngân
1. Bình đựng mẫu đã nghiền nhỏ ;
2. Bình để tập trung thủy ngân thăng hoa ;
3. Ống nối ; 4. Ống vi phễu.

Dung dịch chuẩn gốc :

Hòa tan 0,3336g $Hg(NO_3)_2.0,5H_2O$ tinh khiết hóa học trong 1ml HNO_3 đặc rồi thêm nước cất đến 1 lít, được dung dịch chuẩn có nồng độ 0,1 mg Hg/1ml. Đường chuẩn được xây dựng từ dung dịch chuẩn có hàm lượng 2 μg Hg/ml trong HNO_3 1N.

10. Xác định hàm lượng Cu, Pb, Zn di động trong dung dịch chiết rút amoni axetat theo phương pháp Von-Ampe hòa tan (Trebotareva, 1970)

Lấy 10g đất khô không khí cho vào bình tam giác 250ml, thêm vào 100ml dung dịch đệm amoni axetat có pH = 4,8. Lắc trên máy lắc 1 giờ. Lọc dung dịch qua giấy lọc băng trắng. Lấy 80ml dung dịch lọc cho vào cốc hay bát thạch anh, thêm vào 1ml HNO_3 đặc và chưng trên bếp điện đến trạng thái sệt. Lại thêm vào 2ml HNO_3 đặc nữa, rồi lại chưng dung dịch trong cốc. Quá trình xử lí mẫu bằng HNO_3 tiến hành đến khi phần còn lại chứa ít nước có màu trắng hay màu vàng sáng. Sau đó chưng lượng chứa trong cốc đến khô, "xới nhẹ" phần khô bằng HCl đặc rồi chưng dung dịch trong cốc đến trạng thái muối ẩm. Hòa tan muối khi đun nóng trong 20ml nước cất 2 lần đã được axit hóa bằng HCl (1 : 100). Lọc dung dịch qua giấy lọc đã được rửa trước bằng HCl loãng, hứng dung dịch lọc vào trong bình định mức 50ml. Rửa phần còn lại trên giấy lọc bằng nước cất nóng đã axit hóa rồi đưa thể tích dung dịch đến vạch mức.

Để xác định đồng, kẽm, chì, người ta lấy 8ml dung dịch lọc cho vào cốc dung tích 50–100ml, thêm vào 0,5ml dung dịch Cd (4 μg/ml) dùng làm dung dịch chuẩn trong, một lượng nhỏ axit ascobic. Khuấy đều dung dịch để hòa tan hoàn toàn axit ascobic. Thêm vào trong cốc 1,5ml dung dịch đệm amoni axetat (NH_4OH 1M ; NH_4Cl 2,7M, CH_3COOH 2M) chuyển dung dịch vào bình điện phân tạo giọt thủy ngân ; cho hiđro (hay nitơ) qua dung dịch rồi tiến hành điện phân tại thế – 1,2V trong 3 phút. Sau đó ngừng cho hiđro qua ; giữ yên dung dịch 30 giây, bắt đầu ghi đường biểu diễn quá trình hòa tan anot các kim loại đồng, chì, kẽm. Sau khi ghi được mỗi một pic đều cần dừng không cho thế biến thiên trong một khoảng thời gian ngắn. Nồng độ của nguyên tố được xác định theo phương pháp đường chuẩn.

11. Sử dụng quang phổ hấp thụ nguyên tử để xác định các nguyên tố vi lượng

Từ khi quang phổ hấp thụ nguyên tử ra đời, nhiều nhà nghiên cứu đã vận dụng để xác định lượng vết các nguyên tố trong các đối tượng khác nhau.

L.A.Lerner và D.N Ivanov 1970 đã xác định hàm lượng đồng, kẽm, mangan, coban trong các dung dịch chiết rút đất : HCl 1N, HNO_3 1N, HCl 0,1N, HNO_3 0,1N, H_2SO_4 0,1N, CH_3COOH 0,5N, CH_3COONH_4 1N, dung dịch đệm amoni axetat (pH = 4,8).

Những số liệu nhận được chỉ ra rằng : có thể xác định trực tiếp Mn trong tất cả các dung dịch chiết rút trên; kẽm trong tất cả các dung dịch chiết rút trên trừ amoni axetat; đồng và coban chỉ trong 2 dung dịch chiết rút HCl 1N và HNO_3 1N.

Khi dùng các dung dịch axit mạnh khác nhau về tính chất nhưng có cùng nồng độ đương lượng, để chiết rút các nguyên tố vi lượng thì kết quả xác định hàm lượng của chúng rất gần nhau.

Khi sử dụng dung dịch KCl 1N, chế độ cháy của ngọn lửa bị vi phạm nhiều.

Tỉ lệ giữa đất và dung dịch chiết rút là 1 : 10, thời gian lắc là 1 giờ.

Dãy các mẫu đầu của các nguyên tố cần xác định được chuẩn bị bằng cách hòa tan các muối tinh khiết của các nguyên tố cần xác định trong các dung dịch chiết rút tương ứng. Đôi khi có thể tiến hành phân tích theo các mẫu đầu trong nước.

Độ nhạy khi xác định các nguyên tố như sau :

Nguyên tố	Vạch phân tích (A°)	Dòng của đèn (μA)	Chiều rộng của khe (μm)	Chiều cao của chùm sáng đi qua trên phần trên của đèn khí (mm)	Độ nhạy μg/ml/1%
Cu	3247,54	8	50	2	0,05
Co	2407,25	20	25	2	0,1
Zn	2138,56	10	300	2	0,02
Mn	2794,82	14	100	2	0,07

Khi các điều kiện làm việc của các thiết bị đã ổn định, thì qua vòi phun, đưa các dung dịch mẫu đầu và dung dịch phân tích vào trong ngọn lửa rồi xác định các giá trị mật độ quang D tương ứng của ngọn lửa.

Theo các giá trị mật độ quang của ngọn lửa và nồng độ các mẫu đầu tương ứng, vẽ đồ thị chuẩn trên hai trục ; dựa vào giá trị mật độ quang đo được của mẫu phân tích và đường chuẩn người ta xác định được nồng độ của nguyên tố cần phân tích.

Khi xác định những nguyên tố có nồng độ cao thì mật độ quang tương ứng D_L của các nguyên tố đó sẽ có giá trị cao hơn đáng kể so với giá trị mật độ quang của sự hấp thụ không chọn lọc $D\phi$ ($D_L > D\phi$). Trong trường hợp này không tiến hành hiệu chỉnh kết quả theo sự hấp thụ không chọn lọc. Khi xác định những nồng độ nhỏ, giá trị mật độ quang tương ứng sẽ xấp xỉ với giá trị mật độ quang của sự hấp thụ không chọn lọc $D\phi$ ($D_L \approx D\phi$), khi đó cần phải hiệu chỉnh kết quả giá trị sự hấp thụ không chọn lọc.

Sự hiệu chỉnh kết quả theo sự hấp thụ không chọn lọc được thực hiện như sau :

Sau khi đo các giá trị mật độ quang ($D_{L+\phi}$) theo các vạch hấp thụ của các nguyên tố tương ứng, tiến hành xác định giá trị mật độ quang D_ϕ, khi sử dụng dải phổ liên tục của đèn hidro, hay là những vạch không hấp thụ của sắt (những vạch gần với các vạch phân tích) được phát ra từ đèn phóng điện kép nhiều nguyên tố. Mật độ quang D_L của nguyên tố cần xác định sẽ bằng $D_L = D_{\phi+L} - D_\phi$. Sử dụng giá trị D_L và đồ thị chuẩn đã vẽ xác định được nồng độ chưa biết. Sự hiệu chỉnh theo sự hấp thụ không chọn lọc gắn liền với việc thực hiện hai quá trình đo liên tục khi nghiêm ngặt tuân theo tất cả các điều kiện phân tích.

Chương 12

XÁC ĐỊNH HOẠT TÍNH ENZIM CỦA ĐẤT

Enzim là chất xúc tác sinh học, có bản chất protein được tạo thành do các cơ thể sống. Enzim đóng vai trò quan trọng trong trao đổi chất, quyết định tốc độ và phương hướng của quá trình sinh hóa trong cơ thể.

Trong đất, enzim ở dạng ngoại bào hoặc nội bào, được tách ra do sự phá hủy của tế bào sinh vật và thực vật. Enzim tách vào đất giữ hoạt tính trong thời gian khá lâu phụ thuộc vào tính chất lí, hóa học : pH, độ mặn, lượng cacbonat, tính thục của đất và chế độ phân bón.

Enzim trong đất, chủ yếu bị hấp phụ do các phần tử keo đất, sự phân bố của nó theo thành phần cơ học và liên quan rất nhiều với chất hữu cơ đất.

Hoạt tính enzim được biểu diễn bằng đơn vị tác dụng hóa, nghĩa là nó biểu thị sự thay đổi số lượng bản thể được xúc tác do enzim với thời gian và điều kiện nhất định về nồng độ bản thể, pH, nhiệt độ.

Chuẩn bị đất để xác định enzim. Muốn xác định enzim trong đất khô thì phải để mẫu đất hong khô ở nhiệt độ phòng đến trạng thái khô không khí. Nhặt sạch các rễ cây nhỏ, tán nhỏ đất và rây qua rây 0,25mm. Để xác định enzim trong đất tươi, thì đất được nhặt sạch rễ cây nhỏ, rây sơ qua rây để phân tích. Trong phần này sẽ xác định một số enzim thuộc 2 lớp enzim phổ biến nhất trong đất là enzim oxi hóa khử và enzim thủy phân.

1. Enzim oxi hóa khử

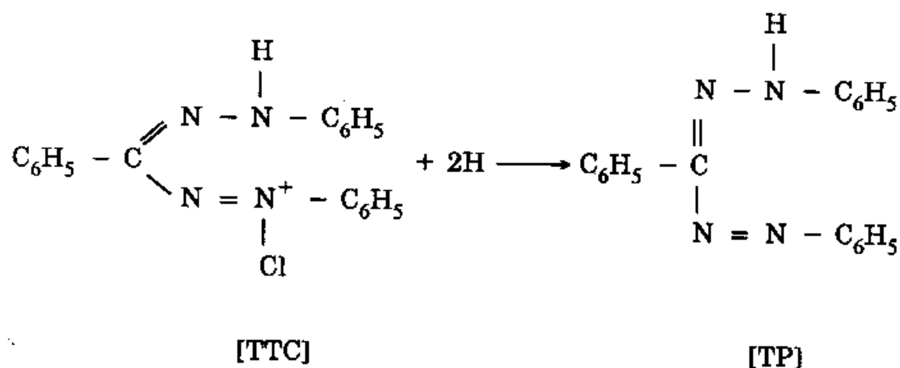
1.1. Xác định enzim đehiđrogenaza (NAD(P) – oxiđehiđrogenaza)

Các enzim đehiđrogenaza tham gia vào quá trình hô hấp chúng tách hiđro khỏi chất nền bị oxi hóa và trực tiếp chuyển hiđro đến oxi phân tử. Một số khác chuyển hiđro đến chất nhận nào đó ví dụ như xanh metilen.

Đehiđrogenaza xúc tác cho phản ứng loại hiđro của chất hữu cơ và thực hiện vai trò chất chuyển trung gian hiđro. Hiđro có thể chuyển đến oxi không khí (đehiđrogeneza hiếu khí) và có thể chuyển đến chất hữu cơ kiểu quinol (đehiđrogenaza kị khí).

Hoạt tính của đehiđrogeneza như chỉ số hoạt động sống của vi sinh vật và số lượng chất mùn bị phân hủy do vi khuẩn.

– *Nguyên lí của phương pháp.* Cơ sở của phương pháp là sử dụng chất nhận hiđro của muối 2, 3, 5 triphenyl–tetraclorit (TTC). Muối không màu sẽ bị khử do hiđro chuyển thành hợp chất màu – triphenylfocmazan (TP)



– *Trình tự phân tích*

+ Cân 1 g đất khô không khí cho vào bình hút chân không 50 ml có nắp thủy tinh.

+ Thêm vào đó 10 mg $CaCO_3$ và trộn đều. Thêm 1ml glucozơ 10% và 1 ml dung dịch 2,3,4 triphenyltetraclo.

+ Việc xác định tiến hành trong điều kiện kị khí, nên phải hút không khí trong bình 2 – 3 phút.

+ Lắc bình cẩn thận và đặt bình trong tủ ấm 37°C trong 24 giờ.

+ Mẫu đối chứng đất được khử trùng ở 180°C trong thời gian 3 giờ.

+ Sau khi ủ thêm vào bình 25 ml rượu etilic và lắc trong thời gian 5 phút.

+ Lọc để thu dịch lọc trong triphenylfoocmazan và so màu trên máy so màu quang điện với kính lọc sáng 500 – 600nm.

– Xây dựng thang màu tiêu chuẩn : lấy 6 bình định mức 25 ml lần lượt thêm vào đó 0, 2, 4, 6, 8 và 10 ml dung dịch foocmazan có nồng độ 0,1 mg/ml định mức bằng rượu etilic đến vạch và so màu.

– Hoạt tính của đehiđrogenaza được biểu diễn bằng mg TPϕ trên 10 g đất trong thời gian ngày đêm, sai số xác định đến 8%.

Tính kết quả : Hoạt tính đehiđrogenaza (X) được biểu diễn bằng mg TPϕ theo công thức sau :

$$X = \frac{a \cdot b \cdot 10}{n}$$

a – TPϕ được tìm trên đồ thị chuẩn (mg)

b – 25 ml dung dịch chiết

10 – để chuyển thành 10 g đất

n – khối lượng đất

Hóa chất

1 – 0,1 M dung dịch chất nền của đehiđrogeneza : 1 g glucozơ hòa tan trong 100 ml nước cất.

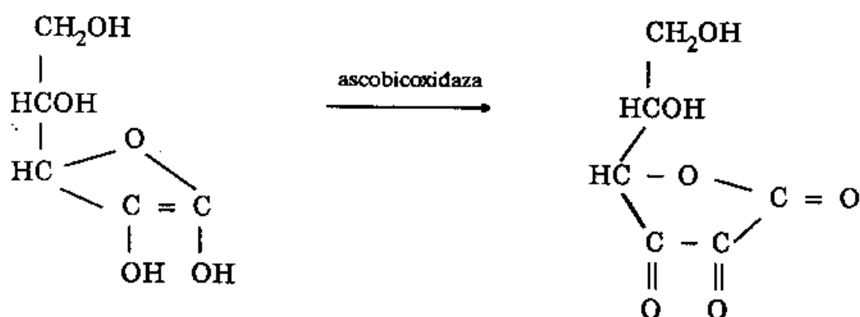
2 – Dung dịch 1% TTC : 1g trong 100ml nước cất.

3 – TPϕ (triphenylfoocmazan) để xây dựng thang màu tiêu chuẩn.

4 – Rượu etilic tinh khiết.

1.2. Xác định hoạt tính enzim ascobicoxiđaza

Enzim này xúc tác phản ứng oxi hóa axit ascobic. Axit ascobic (vitamin C) có trong đất từ nguồn gốc thực vật và vi sinh vật. Axit này dưới tác động của enzim ascobioxiđaza chuyển thành dạng axit đehiđroascobic.



– *Nguyên lí của phương pháp.* Phương pháp xác định hoạt tính của ascobicoxiđaza dựa trên cơ sở xác định số lượng còn lại của axit ascobic trong qua trình phản ứng khí lợi dụng tính khử của nó. Hiệu số giữa lượng axit ascobic thêm vào đất và lượng còn lại là số lượng đehiđroascobic được tạo thành.

– *Trình tự phân tích.* Cân 1 g đất qua rây 0,25 mm cho vào bình miệng rộng 50 ml. Thêm vào 1 ml dung dịch axit ascobic. Dùng pipét thêm vào 1 ml nước cất. Lắc bình đều và đậy bằng nút lie. Đặt bình ở nhiệt độ ủ là 37°C trong 1 giờ. Sau đó dùng ống đong thêm vào 28 ml axit HCl 1%. Lắc trên máy 5 phút ; lọc qua giấy

lọc. Dùng pipét lấy 5 ml dung dịch lọc cho vào bình thể tích 250 ml đã chứa 45 ml nước cất. Chuẩn độ mẫu bằng dung dịch 2,6 điclophenolinđophenol 0,001N đến màu hồng bền vững trong một phút.

Màu đối chứng là đất được khử trùng trong nồi khử trùng ở áp lực 1,5 atm trong 1 giờ.

– *Tính kết quả.* Hoạt tính của ascobicoxiđaza (X) được biểu thị bằng mg của axit đehiđroascobic trong 100 g đất được tính theo công thức sau :

$$X = \frac{(a-b)N \cdot p \cdot 100}{n}$$

a : là số ml dung dịch 2,6 điclophenolinđophenol tiêu tốn khi chuẩn độ.

b : số ml dung dịch trên chuẩn độ mẫu đối chứng.

N : nồng độ của dung dịch 2,6 điclophenolinđophenol (0,001N).

p : hệ số pha loãng dung dịch.

n : khối lượng đất lấy phân tích (g).

100 : để tính ra 100 g đất.

– *Hóa chất*

+ 2,6 điclophenolinđophenol 0,001N : hòa tan 200 g trong nước cất và định mức đến 1 lít. Trước khi lọc cho thêm vào đó 1 thìa cà phê nhỏ $NaHCO_3$. Độ chuẩn của thuốc thử được tính theo axit ascobic.

Hòa tan một vài tinh thể axit ascobic (1 – 1,5 mg) trong bình định mức 50ml bằng dung dịch H_2SO_4 2%. Lấy 5 ml dung dịch vừa mới pha cho vào 2 bình, thêm 1 vài tinh thể KI (gần 5 – 10 ml), 5 giọt dung dịch hồ tinh bột 1%, chuẩn độ 1 bình bằng dung dịch chỉ thị 2,6 điclophenolinđophenol và một bình kia bằng dung dịch KIO_3 0,001N.

Tính độ chuẩn (T)

$$T = \frac{0,088 \cdot a}{b}$$

Ở đây :

+ T số mg axit ascobic tương ứng với 1 ml thuốc thử 2,6 điclophenolinđophenol

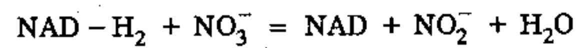
+ 0,088 số mg axit ascobic tương đương với 1 ml dung dịch KIO_3.

+ a là thể tích dung dịch iođatkali tiêu tốn chuẩn độ dung dịch axit ascobic (ml)

+ b là số lượng dung dịch 2,6 điclophenolinđophenol tiêu tốn chuẩn độ (ml).

1.3. Nitratreductaza (NAD – khử : nitrat–oxidoreductaza)

Quá trình khử N – NO_3^- trong đất đến amoniac được xúc tác do enzim nitratređuctaza và nitritređuctaza. Nitratređuctaza tác dụng đến NAD – khử (NAD–H_2) như chất cho hiđro và chuyển hiđro đến oxi của nitrat (NO_3^-) :



$$NAD - H_2 + NO_3^- = NAD + NO_2^- + H_2O$$

– *Nguyên lí của phương pháp.* Phương pháp xác định hoạt tính nitratređuctaza trong đất dựa trên cơ sở tính toán giảm lượng nitrat khi ủ kị khí đất.

– *Trình tự phân tích.*

Cân 1g đất qua rây 0,25mm cho vào ống nghiệm. Thêm 20 mg $CaCO_3$. Dùng pipét thêm vào đó 1 ml dung dịch KNO_3% lắc đều. Thêm 1 ml dung dịch đường glucozơ như chất cho hidro, lắc đều. Đặt ống nghiệm mẫu trong bình hút chân không, hút hết không khí. Sau đó bình hút chân không chứa ống thí nghiệm đặt trong tủ ấm 30°C trong 24 giờ.

Mẫu đối chứng là đất không có chất nền đã được khử trùng ở 180° trong 3 giờ. Sau khi ủ chuyển toàn bộ huyền phù trong ống nghiệm sang bình định mức 50ml bằng nước cất, định mức tới vạch. Lọc vào bình định mức khác và định mức đến 50 ml. Trong trường hợp dung dịch đục thì thêm 1 ml dung dịch bão hòa phèn nhôm.

Lấy 20 ml dung dịch lọc cho vào bát sứ, bay hơi đến gần khô (còn lại vài giọt, không được quá khô NO_3^- sẽ mất) trên bếp, cách thủy. Thêm 1 ml dung dịch axit đisunfophenic, tán phần cặn trong bát bằng đầu đũa thủy tinh. Sau 10 phút thêm vào bát 15 ml nước cất lắc đều và thêm 1 mẩu giấy quỳ. Dùng barét thêm từ từ vào bát dung dịch kiềm 10% đến khi giấy quỳ ngả màu xanh. Đồng thời hợp chất phức màu vàng da cam được tạo thành. Nếu dung dịch đục có thể thêm 2 – 3 giọt kiềm. Chuyển toàn bộ dung dịch trong bát sứ sang bình định mức 50 ml, lắc đều định mức tới vạch.

So màu trên máy so màu quang điện, sử dụng kính lọc sáng xanh (độ dài bước sóng 400 – 500 nm). Đồng thời tiến hành xây dựng thang màu tiêu chuẩn (có thể xem thêm phần phân tích cây, đất).

Hoạt tính nitratreductaza được biểu diễn bằng mg NO_3^- bị khử trên 10 g dung dịch trong ngày đêm. Sự khác nhau giữa số lượng NO_3^- thêm vào đất trong thành phần chất nền (1 ml KNO_3 1%) và lượng còn lại NO_3^- chính là lượng NO_3^- bị khử.

– *Tính kết quả.* Hoạt tính của nitratreductaza (X) được biểu diễn bằng mg NO_3^- bị khử trên 10g đất trong 24 giờ : được tính theo công thức sau :

$$X = \frac{a \cdot p \cdot 10}{n}$$

a : số lượng NO_3^- được tìm thấy trên đồ thị (mg)

b : hệ số pha loãng $\left(\frac{50}{20}\right)$

10 : tính trên 10 g đất

n : khối lượng đất lấy phân tích.

– *Hóa chất*

+ Dung dịch chuẩn. Cân 0,722g KNO_3 đã sấy khô hòa tan trong 1 lít nước cất (1 ml dung dịch chứa 0,01 mg N – NO_3). Pha loãng dung dịch trên 5 lần sẽ được dung dịch có nồng độ 0,002 mg N–NO_3/ml. Dung dịch này dùng để xây dựng thang màu tiêu chuẩn.

+ Axit đisunfophenic xem phần phân tích cây.

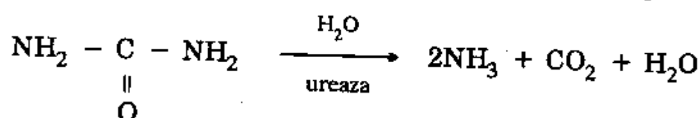
2. Enzim thủy phân hợp chất hữu cơ

Trong thành phần xác thực vật, vi sinh vật ở trong đất chứa một số lượng lớn hợp chất protein, axitamin và các hợp chất hữu cơ khác. Sự chuyển hóa của các hợp chất này trong đất do có sự có mặt của enzim thủy phân và enzim khử amin. Sản phẩm cuối cùng của quá trình chuyển hóa là NH_4^+, vì vậy người ta gọi quá trình trên là amôn hóa.

2.1. Enzim ureaza

– *Nguyên lí của phương pháp* là tính lượng NH_4^+ được tạo thành khi thủy phân.

Enzim ureaza xúc tác phản ứng thủy phân urê. Phản ứng thủy phân xảy ra như sau :



$$NH_2-\underset{\underset{O}{\|}}{C}-NH_2 \xrightarrow[\text{ureaza}]{H_2O} 2NH_3 + CO_2 + H_2O$$

Urê có mặt trong đất từ thành phần xác thực vật phân chuồng cũng như phân đạm. Sự có mặt của urê trong đất còn do sự chuyển hóa hợp chất hữu cơ chứa nitơ.

– *Trình tự phân tích*

+ Cân 5 g đất cho vào bình dung tích 50ml, thêm 10ml dung dịch đệm photphat (pH = 6,7), 10ml dung dịch urê 10%.

+ Đậy nút bình, lắc đều và đặt vào tủ ấm nhiệt độ 37°C trong 24 giờ.

+ Lọc gạn phần dịch qua phễu lọc (chỉ chuyển phần nước).

+ Thêm vào bình chứa đất 15ml KCl 1N, lắc 5 phút để đẩy NH_4^+ hấp phụ.

+ Lọc tiếp tục vào bình trên và định mức dịch lọc đến thể tích 50 ml.

+ Lấy 10 ml dung dịch lọc để cất xác định nitơ theo phương pháp Kendan.

+ Thêm 5 ml dung dịch kiềm 2% để đẩy NH_3 và cất khoảng 15 phút kể từ lúc sôi. Chuẩn độ và tính kết quả.

– *Tính kết quả.* Hoạt tính enzim ureaza được tính bằng mg trên 10 g đất trong ngày đêm.

$$NH_3 = \frac{(a-b)N \cdot 14 \cdot 10 \cdot p}{n}$$

a – số ml axit tiêu tốn chuẩn độ mẫu đối chứng (ml)

b – số ml axit tiêu tốn chuẩn độ mẫu phân bón

N – nồng độ của axit

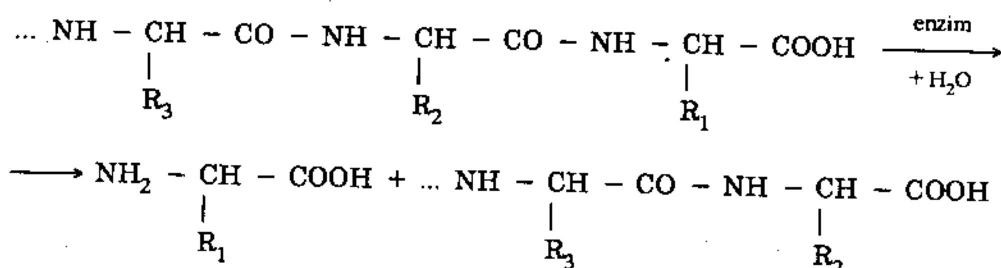
14 – đương lượng của nitơ

10 – tính ra hoạt tính trên 10 g đất

p – hệ số pha loãng.

2.2. Enzim proteaza

Enzim proteaza xúc tác phản ứng thủy phân phân hủy hợp chất protein trong đất thành peptit và axit amin. Phản ứng phân hủy đó nhằm vào phá vỡ liên kết peptit theo sơ đồ như sau :



$$\ldots NH - \underset{\substack{| \\ R_3}}{CH} - CO - NH - \underset{\substack{| \\ R_2}}{CH} - CO - NH - \underset{\substack{| \\ R_1}}{CH} - COOH \xrightarrow[+H_2O]{enzim}$$

$$\longrightarrow NH_2 - \underset{\substack{| \\ R_1}}{CH} - COOH + \ldots NH - \underset{\substack{| \\ R_3}}{CH} - CO - NH - \underset{\substack{| \\ R_2}}{CH} - COOH$$

Phản ứng phân hủy thủy phân này có ý nghĩa đối với độ phì của đất, là giai đoạn đầu của quá trình amon hóa, cung cấp nitơ khoáng cho cây.

– *Nguyên tắc của phương pháp.* Nguyên tắc của phương pháp là dựa trên cơ sở tính toán số lượng axit amin tạo thành khi thủy phân các protein trong đất bằng sự liên kết chúng thành phức chất có màu.

Khi xác định hoạt tính proteaza trong đất thì thường chất nền được sử dụng như casein, zelatin và một số peptit.

– *Trình tự phân tích*

+ Cân 2g được trên cân kĩ thuật cho vào bình 50 ml

+ Thêm 10 ml dung dịch casein hay zelatin 1% pha trong dung dịch đệm photphat (pH = 7,4) và 0,5 ml toluen.

+ Đậy nút bình, lắc 3 phút và cho vào tủ ấm 30°C trong thời gian 24 giờ.

+ Đồng thời cũng đặt vào tủ ấm mẫu đối chứng đã tiệt trùng bằng hơi nóng ở 150°C, trong 3 giờ.

+ Lọc và lấy 5 ml dịch lọc trong cho vào ống nghiệm thủy tinh.

+ Thêm vào đó 0,5 ml dung dịch H_2SO_4 0,1N.

+ Thêm 3 ml dung dịch Na_2SO_4 20% để tạo ra môi trường axit yếu kết tủa protein.

+ Lại lọc dung dịch vào ống nghiệm.

+ Thêm vào dung dịch lọc 1 ml dung dịch ninhiđrin 2% lắc đều.

+ Đặt ống nghiệm chứa dung dịch đun trên bếp cách thủy trong 10 phút.

+ Chuyển toàn bộ dung dịch màu trong ống nghiệm sang bình định mức 50ml, định mức bằng nước cất đến vạch, lắc đều.

+ So màu trên máy so màu quang điện, với cuvét dày 5mm, sử dụng kính lọc sáng xanh lá cây (chiều dài bước sóng 500 – 600 nm).

– *Tính kết quả.* Hoạt tính proteaza được biểu thị bằng mg glixin trên 10 g đất. Độ chính xác là 80%.

Để tính toán phải cấu tạo thang tiêu chuẩn : 0,1 g glixin tinh khiết hòa tan trong 100 ml nước cất. Trong 1ml dung dịch này chứa 1mg glixin.

Từ dung dịch trên lấy 2, 4, 6, 8 và 10 ml cho vào các bình định mức 50 ml và lần lượt thêm tất cả các thuốc thử như phân tích mẫu và cuối cùng là hiện màu với ninhiđrin.

Hoạt tính proteaza (X) được biểu thị bằng mg glixjn trên 10g đất trong 24 giờ.

$$X = \frac{a \cdot 10}{n}$$

a : số mg glixin tìm thấy trên đồ thị chuẩn.

n : số g đất tương ứng với thể tích xác định (hiện màu)

10 : để chuyển kết quả ra 10g đất.

– *Hóa chất*

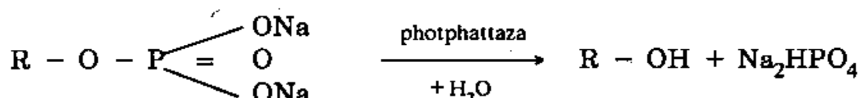
+ Dung dịch zelatin 1% (hay casein) trong dung dịch đệm photphat (pH = 7,4).

+ Dung dịch đệm photphat (pH = 7,4) : 11,876 g $Na_2HPO_4.2H_2O$ hòa tan trong 1 lít nước cất : 9,078g KH_2PO_4 hòa tan trong 1 lít nước cất. Trộn 80 ml dung dịch $Na_2HPO_4.2H_2O$ với 20 ml dung dịch KH_2PO_4 ta sẽ có dung dịch có pH = 7,38.

+ Dung dịch ninhiđrin 2%. Cân 2g ninhiđrin hòa tan trong axeton, đưa đến 100ml. Dung dịch làm việc được chuẩn bị bằng cách hỗn hợp 95 ml dung dịch này với 1 ml CH_3COOH và 4 ml nước (chỉ chuẩn bị trước khi xác định).

2.3. Enzim photphataza

Photphataza thuộc nhóm enzim xúc tác cho phản ứng thủy phân hợp chất photphat hữu cơ theo mối liên kết este photphat :



Trong môi trường đất có các photphataza kiềm và axit xúc tác thủy phân tách ra photphat vô cơ và gốc hữu cơ của chất nền.

– *Nguyên lí của phương pháp.* Phương pháp xác định hoạt tính photphataza dựa trên cơ sở đo photphat vô cơ được tách ra trong phản ứng enzim hóa hay phần hữu cơ của phân tử chất nền – photphat hữu cơ.

Photphataza kiềm được xác định ở pH : 8, còn axit được xác định ở pH : 5,4. Hoạt tính photphataza tổng số được xác định ở pH tự nhiên của đất đó.

Hợp chất photphat hữu cơ là phần quan trọng của photphát đất (20 – 80%) được chuyển thành trạng thái dễ tiêu đối với cây do tác dụng enzim thủy phân. Hoạt tính của enzim được đặc trưng cho quá trình sinh hóa huy động photpho cho cây trồng.

– *Trình tự xác định*

+ Cân 1g đất khô không khí (được chuẩn bị để xác định enzim) cho vào bình 50 ml.

+ Thêm 0,9ml nước cất để làm ẩm đất.

+ Thêm 1ml dung dịch phenolplitaleinphotphat natri.

+ Thêm 3 giọt toluen, đậy nắp bình và lắc 5 phút trên máy lắc.

+ Đặt vào tủ ấm ở nhiệt độ 30°C trong một giờ.

+ Thêm 45ml nước cất và lắc đều 5 phút.

+ Lọc qua giấy lọc không tro vào bình định mức 50ml.

+ Lấy 20ml dung dịch lọc cho vào ống nghiệm, thêm vào 2ml dung dịch NH_4OH 10%, lắc đều.

+ Dung dịch màu được đo trên máy so màu quang điện với kính lọc sáng màu xanh, cuvét dày 5mm.

+ Nếu dung dịch có màu tối có thể thêm vào 1 ml dung dịch bão hòa phèn nhôm.

+ Dung dịch chuẩn là phenolphtalein : 0,01g phenolphtalein hòa tan trong 60ml rượu etilic và định mức tới 100ml. Trong 1ml dung dịch này chứa 0,1mg phenolphtalein.

Thang dung dịch màu tiêu chuẩn được cấu tạo như sau : lần lượt lấy lượng dung dịch mẫu tiêu chuẩn chứa lượng tương ứng 0,02 ; 0,04 ; 0,06 ; 0,08 và 0,1mg P_2O_5/50ml và các hoạt động tiếp theo giống như phân tích mẫu. Đo cường độ màu trên máy so màu quang điện.

– *Tính kết quả.* Tính hoạt tính của enzim photphataza (bằng mg P_2O_5/100g đất) theo công thức sau :

$$X = \frac{(a-b) . p . 0,45 . 100}{n}$$

a : số lượng phenolphtalein theo đồ thị của mẫu thí nghiệm.

b : số lượng phenolphtalein theo đồ thị của mẫu đối chứng.

0,45 : hệ số chuyển phenolphtaleinphotphat natri thành P_2O_5.

n : khối lượng đất (g).

100 : để chuyển kết quả ra 100g đất.

– *Hóa chất*

+ Dung dịch phenolphtalein photphat natri 1%

+ Dung dịch NH_4OH 10%

+ Rượu etilic

+ Dung dịch bão hòa phèn nhôm.

2.4. Enzim xenlulaza

Enzim xenlulaza xúc tác cho phản ứng thủy phân xenlulozơ trong đất thành glucozơ. Quá trình phân giải này có ý nghĩa rất lớn đối với sự chuyển hóa chất hữu cơ ở trong đất và độ phì đất.

– *Nguyên lí của phương pháp* là tính lượng glucozơ được tạo ra trong quá trình thủy phân.

- *Trình tự phân tích*

+ Cân 10g đất trên cân kĩ thuật cho vào bình 50ml.

+ Thêm vào 1,5ml toluen.

+ Thêm 5ml dung dịch đệm axetat (pH : 5,5).

+ Thêm 5ml dung dịch cacboximetylxenlulozơ (CMX) 1%, lắc đều.

+ Đậy nắp bình và đặt vào tủ ấm 35°C trong thời gian 48 giờ.

+ Mẫu đối chứng thay chất nền bằng 5ml nước ; mẫu đối chứng thứ 2 bao gồm các thuốc thử nhưng không có đất.

+ Sau khi ủ thì đặt bình trên bếp cách thủy đun đến 100°C.

+ Thêm 0,3g phèn nhôm để kết tủa CMX.

+ Lọc qua giấy lọc không tro và bình định mức 50 ml, đưa thể tích dịch lọc đến 50ml bằng nước cất.

+ Lấy 2ml dung dịch lọc cho vào ống nghiệm chịu nhiệt dung tích 45 - 50ml.

+ Thêm 4ml dung dịch antron.

+ Sau 30 phút so màu trên máy so màu quang điện với kính lọc sáng màu xanh (độ dài bước sóng 551 nm), với cuvét dày 10 mm. Mẫu đối chứng là mẫu đối chứng thứ nhất.

+ Số lượng glucozơ được tạo thành tính theo đồ thị chuẩn thành phần ban đầu.

- *Tính kết quả*. Hoạt tính xenlulaza (X) được tính theo công thức sau :

$$X = \frac{a.p.10}{n} \quad \text{(mg glucozơ/10g đất)}$$

a : số mg glucozơ của mẫu tương ứng với thang chuẩn được tìm thấy trên đồ thị

p : hệ số pha loãng mẫu

n : khối lượng mẫu đất lấy phân tích

10 : Tính kết quả ra 10g đất.

- *Hóa chất*

+ Dung dịch CMX 1%

+ Dung dịch antron : dung dịch antron 0,2N trong dung dịch H_2SO_4 95% (5 ml nước thêm axit H_2SO_4 đặc cho đến 100ml). Dung dịch H_2SO_4 95% đã nguội thêm vào đó 200 mg antron và giữ dung dịch này 4 giờ trong nước đá. Chỉ pha trước lúc sử dụng.

+ Dung dịch glucozơ tiêu chuẩn : lấy 2,5 ml dung dịch glucozơ (có lượng glucozơ từ 10 - 200 μg/ml) tác dụng với 5 ml antron và so màu thang màu đó.

Ghi chú antron là 9,10 đihiđro 9-xetoantraxen ($C_{14}H_{10}O$).

3. Xác định khả năng nitrat hóa của đất

Hầu hết nitơ của đất ở dạng hữu cơ, dạng khoáng không quá 1% lượng tổng số. Dạng nitơ khoáng (NH_4^+, NO_3^-...) là nguồn dinh dưỡng trực tiếp của cây. Trong đất nguồn nitơ khoáng luôn được bổ sung, huy động do các quá trình phân giải sinh học

amon hóa và nitrat hóa. Nguồn NH_4^+ được tạo ra trong đất được các keo đất giữ lại bằng phản ứng hấp phụ, dự trữ cho dinh dưỡng cây trồng. Còn NO_3^- không bị keo đất hấp phụ, không bị liên kết hóa học dễ mất do rửa trôi theo nước mặt hay xuống tầng đất sâu hơn. Vì vậy xác định khả năng tạo thành NO_3^- có ý nghĩa về dinh dưỡng của cây trồng và sử dụng phân bón.

– *Nguyên lí của phương pháp.* Nguyên lí của phương pháp là tính lượng NO_3^- được tạo ra do sự nitrat hóa trong thời gian nhất định (12 ngày đêm) và điều kiện thuận lợi về nhiệt độ (28°C) độ ẩm (60% dung lượng ẩm đồng ruộng) và cung cấp đầy đủ oxi.

Khả năng nitrat hóa của đất được xác định ở trạng thái tự nhiên khi đưa vào đất phân bón dạng amoni 0,14 mg $(NH_4)_2SO_4$, tương đương 30mg N và vôi (0,5g) để giảm độ chua của đất.

– *Trình tự xác định*

+ Lấy 1 chiếc cốc, dưới đáy trải một ít thủy tinh vỡ xếp thành dạng núi và đặt một ống thủy tinh chạm đáy cốc.

+ Cân toàn bộ cốc thủy tinh vỡ và ống trên cân kĩ thuật. Đó là trọng lượng bì.

+ Cân trên cân kĩ thuật 3 mẫu đất mỗi mẫu 100g (lấy từ mẫu trung bình, đất qua rây 1 mm). Đồng thời cân 10 g đất để xác định độ ẩm.

+ Một mẫu đất cho vào cốc, nén nhẹ đất hơi chặt (a).

+ Một mẫu đất thứ hai cho vào bát sứ to, thêm vào 0,14 g $(NH_4)_2SO_4$, trộn đều bằng thìa nhỏ và chuyển đất vào cốc thứ hai đã chuẩn bị như đã nói ở trên (b).

+ Một mẫu đất thứ 3 cho vào bát sứ, thêm 0,14 $(NH_4)_2SO_4$ và 0,5g $CaCO_3$, trộn đều cẩn thận và chuyển vào cốc thứ 3 (C) nén nhẹ đất hơi chặt.

+ Tính dung lượng ẩm đất bằng cách xác định độ ẩm đất (sấy ở 105°C đến khối lượng đất không đổi).

+ Cốc cùng với đất đặt trên cân kĩ thuật và thêm nước bằng pipet đến khối lượng đã được tính tương ứng với 60% dung lượng ẩm đồng ruộng.

+ Đặt các cốc chứa đất đã điều chỉnh độ ẩm vào tủ ấm 28°C, thêm nước định kì trong thời gian ủ (12 ngày đêm) theo khối lượng. Độ ẩm trong cốc giữ ổn định bằng 60% dung lượng ẩm đồng ruộng.

+ Đồng thời với việc ủ đất, phải xác định hàm lượng NO_3^- riêng trong đất trước khi ủ.

+ Sau 12 ngày tiến hành xác định NO_3^- trong đất.

+ Cân 50g đất sau khi ủ cho vào bình 250 – 300ml.

+ Thêm 0,5g than hoạt tính đã nghiền nhỏ

+ Thêm 250ml nước cất và lắc đều 5 phút.

+ Lọc qua giấy lọc, nếu phần đầu đục có thể đổ ngược lại phễu. Nếu dung dịch đục có thể thêm 2 ml dung dịch $Al_2(SO_4)_3$ (13 g sunphat Al pha trong 100 ml H_2O) trước khi lọc.

+ Lấy 50 ml dung dịch trong cho vào bát sứ bay hơi trên bếp cách thủy đến khô.

+ Thêm vào 1ml axit đisunfophenic, hòa tan hết phần cặn trong bát.

+ Sau 10 phút thêm vào bát sứ 20ml nước cất, lắc đều và trung hòa theo giấy quỳ bằng dung dịch NH_4OH 10%.

+ Kết thúc trung hòa, nếu trong dung dịch có NO_3^- thì dung dịch hiện màu vàng và thêm tiếp 1 giọt NH_4OH để kết thúc việc trung hòa.

+ Chuyển dung dịch màu vàng sang bình định mức 50ml định mức tới vạch. Đo cường độ màu trên máy so màu quang điện.

+ Đồng thời chuẩn bị thang màu tiêu chuẩn như khi phân tích mẫu.

– *Tính kết quả.* Khả năng nitrat hóa biểu diễn bằng mg NO_3^- / 100g đất được hình thành sau 12 ngày ủ. Phần tính NO_3^- xem mục phân tích cây và đất.

– *Hóa chất*

+ Axit đisunfophenic

+ NH_4OH hay KOH 10%

+ Dung dịch chuẩn NO_3^- : Cân 0,1631g KNO_3 tinh khiết hòa tan trong 1 lít nước. Lấy 100ml pha thành 1 lít sẽ được dung dịch để cấu tạo thang màu tiêu chuẩn, chứa 0,01 mg NO_3^-/1ml.

Chương 13

MỘT SỐ PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH VI SINH VẬT ĐẤT

Vi sinh vật có mặt khắp nơi trong tự nhiên : trong đất, trong nước, trong không khí... Trong đó, đất là một trong những môi trường thuận lợi nhất cho sự phát triển của các loại vi sinh vật khác nhau. Vi sinh vật có vai trò quan trọng trong quá trình hình thành đất. Độ phì của đất được tạo thành là nhờ quá trình hoạt động của vi sinh vật trong các vòng tuần hoàn sinh học và quá trình tích lũy sinh học của đất. Các sản phẩm hoạt động của vi sinh vật là yếu tố quan trọng và, tích cực quyết định phá hủy đá và khoáng vật tạo thành đất.

Để xác định được số lượng của vi sinh vật trong đất, người ta thường sử dụng nhiều phương pháp khác nhau, phần dưới đây sẽ trình bày các phương pháp phân tích một số nhóm vi sinh vật chính trong đất có vai trò quan trọng đối với sản xuất nông nghiệp. Đây là những phương pháp đang được sử dụng rộng rãi trong các phòng thí nghiệm ở Việt Nam và các nước trên thế giới.

1. Chuẩn bị dụng cụ phân tích vi sinh vật

1.1. Vật liệu, trang thiết bị và hóa chất

- Túi đựng mẫu đất (bằng plastic, hộp, lọ, nhựa các cỡ)
- Bông vô trùng và cồn 96^{o}
- Dụng cụ lấy mẫu : dao, xẻng, kéo
- Tủ lạnh để bảo quản mẫu
- Đèn cồn
- Các loại dụng cụ thủy tinh vô trùng : hộp petri, ống nghiệm, pipet các loại, bình tam giác các loại
- Cân phân tích, kĩ thuật
- Máy lắc
- Hóa chất các loại để chuẩn bị môi trường hoặc môi trường đã được chuẩn bị sẵn.
- Nồi hấp khử trùng
- Nhiệt kế
- Nồi cách thủy có điều chỉnh nhiệt độ
- Tủ ấm nuôi vi sinh vật
- Máy khuấy từ
- Kính hiển vi và các dụng cụ làm tiêu bản kèm theo
- Máy đếm khuẩn lạc
- Các loại que cấy vi sinh vật
- Tủ sấy
- Buồng khử trùng
- Một số loại thuốc nhuộm
- Một số dụng cụ máy móc chuyên dùng khác

Phòng thí nghiệm phân tích vi sinh vật phải được bố trí ở nơi thoáng gió, phòng luôn sạch sẽ, các dụng cụ dùng để phân tích phải được vô trùng trước khi làm việc.

1.2. Khử trùng dụng cụ và môi trường nuôi cấy vi sinh vật

Khử trùng là một trong những biện pháp quan trọng và bắt buộc trong phân tích vi sinh vật nhằm tránh sự phát triển của vi sinh vật ngoại lai vào giống vi sinh vật nghiên cứu.

- Khử trùng dụng cụ : tất cả các dụng cụ phân tích vi sinh vật phải được để khô và đặt trong hộp đựng dụng cụ có nắp đậy. Trước khi dùng phải khử trùng khô ở nhiệt độ 160 – 180^{o}C trong 120 phút hoặc khử trùng ướt ở 1,0 atm trong 30 phút.
- Khử trùng môi trường nuôi cấy vi sinh vật theo yêu cầu cụ thể của từng môi trường.

1.3. Lấy mẫu đất để phân tích

1.3.1. Nguyên tắc

Mọi dụng cụ lấy mẫu, đựng mẫu đều phải vô trùng, mẫu đất lấy về tốt nhất là phân tích ngay. Nếu chưa có điều kiện phân tích ngay thì phải bảo quản trong tủ lạnh ở 5^{o}C và phải phân tích trong vòng một tuần.

1.3.2. Các phương pháp lấy mẫu đất

Tùy thuộc vào mục đích yêu cầu mà lựa chọn cách lấy mẫu thích hợp, có thể lấy mẫu theo hai hình thức :

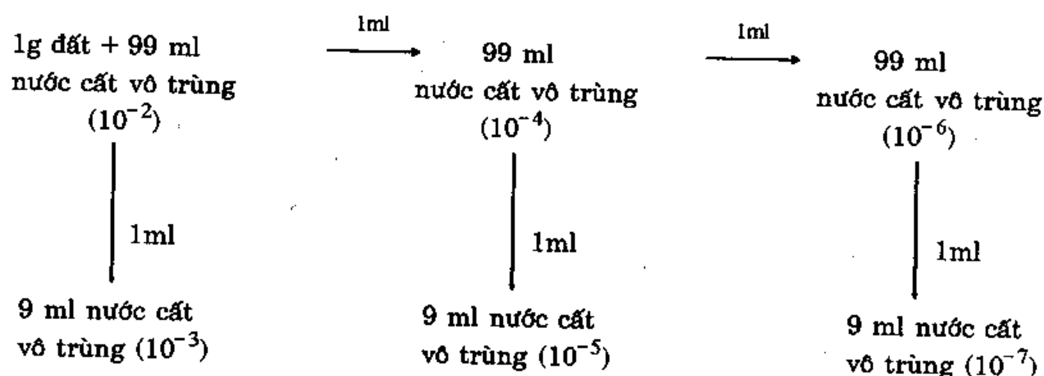
– Lấy mẫu theo tầng phát sinh : cách thức tiến hành tương tự như lấy mẫu để phân tích các chỉ tiêu lí, hóa thông thường khác. Tuy nhiên, khi lấy mẫu phân tích vi sinh vật phải dùng dụng cụ đã vô trùng (hơ dụng cụ vào lửa hoặc lau bằng cồn). Cũng có thể khử trùng và "làm sạch" dụng cụ bằng chính lớp đất ở tầng cần lấy mẫu rồi lấy mẫu đất ngay tầng đó. Khi lấy mẫu đất phải loại bỏ lớp đất ở trên mặt độ sâu từ 1 đến 3 cm, vì lớp đất này dễ bị các vi sinh vật xâm nhiễm vào từ bên ngoài.

– Lấy mẫu hỗn hợp : thường được sử dụng trong nghiên cứu về động thái của vi sinh vật trên một khu đất nghiên cứu hoặc trong các ruộng thí nghiệm. Mẫu đất được lấy ở tầng canh tác, từ 5 đến 10 điểm theo nguyên tắc đường chéo. Trên diện tích 100 – 200 m^2 cần lấy 7 – 10 mẫu, sau lấy mẫu trung bình. Mỗi mẫu lấy khoảng 0,5 – 1kg, trộn đều với nhau trên tấm nilon đã vô trùng, sau đó lấy 0,5 – 1kg vào hộp nhựa vô trùng, đặt vào túi vải buộc lại và cho vào túi nilon.

1.4. Chuẩn bị mẫu đất để phân tích

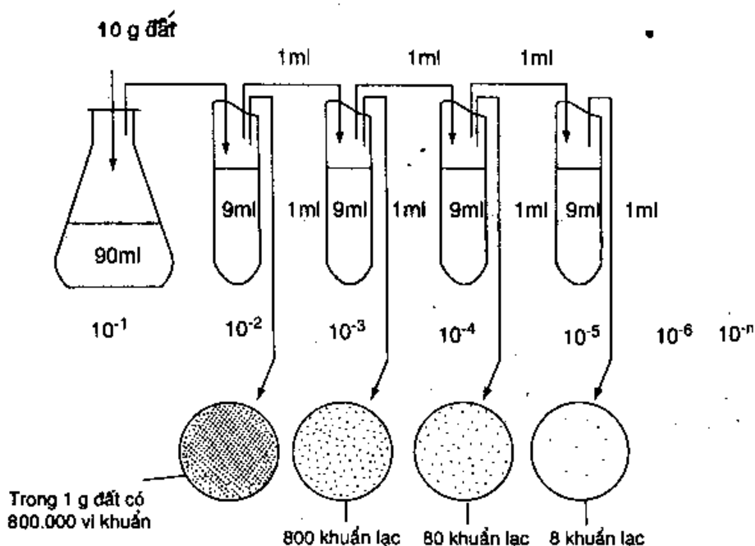
Mẫu đất đem phân tích cần được trộn đều trong cốc hay hộp nhựa vô trùng ở phòng thí nghiệm, sau đó dùng phanh hoặc kẹp sắt vô trùng để loại bỏ rễ cây và các vật lạ khác. Nếu mẫu đất lấy phân tích ở trong tủ lạnh thì trước khi phân tích phải phục hồi sự phát triển của vi sinh vật ở trong đất bằng cách cho vào tủ ấm ở 28 – 30°C, sau một đêm mang mẫu ra phân tích.

Dùng thìa nhỏ đã vô trùng lấy 1 g đất vào chén sứ đã khử trùng, sau đó nghiền đất bằng chày cao su vô trùng. Chuẩn bị hai bình tam giác, một bình đựng 99 ml nước cất vô trùng và 1 bình không đựng gì đã vô trùng. Lấy nước ở bình thứ nhất đổ vào chén sứ để chuyển toàn bộ đất đã nghiền nát vào bình thứ hai rồi đậy bình bằng nút bông, lắc đều trong 10 phút. Sau đó lấy ra để yên 1 phút cho lắng các hạt lớn và ngay sau đó được dùng để chuẩn bị tiêu bản hoặc để pha loãng tiếp, khi đó ta được dịch huyền phù đất ở độ pha loãng là 10^{-2}, tiếp tục chuẩn bị các dịch nuôi cấy có độ pha loãng, 10^{-4}, 10^{-6} ... theo sơ đồ sau đây :



Sơ đồ pha loãng dịch nuôi cấy

Từ dịch huyền phù gốc có độ pha loãng 10^{-2}, dùng pipet vô trùng hút 1 ml cho vào bình tam giác có chứa 99 ml nước cất vô trùng ta được độ pha loãng 10^{-4}, sau đó tiến hành pha loãng theo sơ đồ pha loãng dịch nuôi cấy (trang 180) và sơ đồ hình 31 được độ pha loãng 10^{-2}, 10^{-4}, 10^{-5}, 10^{-6}... Mỗi lần pha loãng phải dùng một pipet riêng để tránh làm sai lệch độ pha loãng. Mức độ pha loãng tùy thuộc vào loại đất nghiên cứu, đối với các loại đất của Việt Nam thông thường pha loãng đến 10^{-6}. Việc pha loãng dịch huyền phù có ảnh hưởng đến số lượng khuẩn lạc nuôi cấy trên môi trường (hình 31).



Hình 31 – Sơ đồ pha loãng dịch nuôi cấy

1.5. Cấy mẫu

Sau khi pha loãng xong tiến hành cấy mẫu trên môi trường để xác định số lượng của vi sinh vật. Có thể cấy mẫu trên môi trường đặc (phương pháp Koch) hoặc cấy trên môi trường lỏng (phương pháp pha loãng tới hạn, phương pháp chuẩn độ).

1.5.1. Phương pháp cấy trên môi trường đặc (phương pháp Koch)

Phân bổ môi trường thạch lỏng đã khử trùng vào các hộp petri vô trùng, mỗi hộp khoảng 15 – 20ml. Sau khi thạch đông lật ngược hộp để trong tủ ấm 28 – 30°C từ 2 – 3 ngày và kiểm tra độ vô trùng của môi trường. Dùng pipet vô trùng lấy khoảng 0,05 – 0,2 ml ở các độ pha loãng khác nhau của dịch cấy trên bề mặt của các hộp petri. Từ mỗi độ pha loãng cấy vào 3 – 5 hộp petri dịch cấy (lí tưởng nhất là 5 hộp petri, thực chất đây là 5 lần nhắc lại). Để cấy lặp lại, từ một độ pha loãng có thể chỉ sử dụng một pipet và một que gạt vô trùng. Còn để cấy từ các độ pha loãng khác nhau mới sử dụng các pipet và que gạt vô trùng mới. Sau khi cấy xong đặt các hộp petri vào nuôi trong tủ ấm ổn nhiệt và điều khiển nhiệt độ thích hợp với các vi sinh vật cần xác định. Cùng lúc chuẩn bị mẫu đất để phân tích vi sinh vật, tiến hành lấy mẫu đất để xác định độ ẩm và các chỉ tiêu dinh dưỡng khác.

1.5.2. Phương pháp cấy trên môi trường lỏng (phương pháp pha loãng tới hạn, phương pháp chuẩn độ)

Môi trường lỏng được phân vào các ống nghiệm sau đó đem khử trùng và loại trừ các ống bị nhiễm. Cấy dịch pha loãng khác nhau của mẫu nghiên cứu vào ống

nghiệm, mỗi ống 1 ml dịch pha loãng. Ở mỗi độ pha loãng cấy lặp lại 3 - 5 lần và nuôi trong tủ ấm ở nhiệt độ thích hợp. Thời gian nuôi cấy phụ thuộc vào tốc độ sinh trưởng của vi sinh vật cần xác định số lượng.

2. Phương pháp đếm số lượng vi sinh vật

Có rất nhiều phương pháp khác nhau để xác định số lượng vi sinh vật trong đất và trong các cơ chất.

2.1. Phương pháp đếm tế bào vi sinh vật trực tiếp dưới kính hiển vi

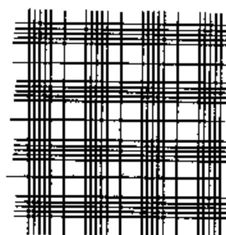
Phương pháp này cho phép đếm dưới kính hiển vi một cách đầy đủ nhất số lượng vi sinh vật có trong mẫu đất và cơ chất. Hạn chế của phương pháp là không phân biệt được tế bào sống với tế bào chết nên kết quả tính toán thiếu chính xác. Nhưng ưu điểm của phương pháp là cho phép nhận biết được hình dạng, độ lớn của tế bào, độ phân li của từng nhóm sinh lí riêng biệt (dạng hình que, hình nhảy, hình Koch).

2.1.1. Phương pháp sử dụng buồng đếm (có thể sử dụng loại buồng đếm hồng cầu : Thomas Goriaer, Neubauer, Petoff - Hauser, Biorker)

Phương pháp này chỉ sử dụng để xác định những vi sinh vật có kích cỡ tương đối lớn như : quan sát bào tử của xạ khuẩn và nấm men... Hạn chế của phương pháp là không sử dụng được kính vật ở khoảng cách tiêu cự nhỏ.

Trong thực tiễn thường sử dụng buồng đếm của Thomas. Buồng đếm được làm bằng kính tiêu bản, ở giữa có độ lõm sâu 0,1 ml, ở đáy chỗ lõm có một lưới với diện tích là 1 mm^2 và được chia thành 400 ô vuông nhỏ, diện tích mỗi ô bằng 1/400 mm^2. Như vậy, thể tích chất lỏng được chứa ở mỗi ô vuông là 1/4.000 mm^3 hay 1/4.000.000 cm^3 (hình 32).

Chuẩn bị tiêu bản : dùng micopipet, cho 1 giọt dịch lên phần chia ô của buồng đếm (cẩn thận không để tạo thành các bọt nhỏ). Lấy một lá kính mỏng đậy từ từ lên mặt phần ô đếm. Phần dịch thừa tràn ra theo 2 rãnh bên có thể dùng Vadơlin để cố định lá kính. Sau đó quan sát dưới kính hiển vi (ở khoảng hai tiêu cự lớn) nếu dịch nuôi cấy hay dịch huyền phù quá đậm đặc thì phải tiếp tục pha loãng như cách làm ở 3.1.4 và chuẩn bị lại tiêu bản. Đếm số lượng tế bào trong các ô theo đường chéo hoặc theo các góc trung tâm, khi đếm nếu có các tế bào nằm ở ranh giới hai ô thì chỉ đếm ở cạnh trên và bên trái của ô đó. Đếm ít nhất từ 15 - 20 ô, sau đó tính số lượng tế bào trung bình có trong một ô nhân với 4.000.000, nhân tiếp với độ pha loãng.



Hình 32 – Buồng đếm Thomas

Ví dụ : xác định được số lượng trung bình tế bào vi sinh vật trong 1 ô vuông nhỏ của buồng đếm là 6, độ pha loãng của dung dịch huyền phù là 10 lần, như vậy lượng tế bào trong 1 ml là :

$$6 \times 4.000.000 \times 10 = 240.000.000$$

Từ kết quả này có thể tính được số lượng tế bào vi sinh vật có trong 1g đất hay cơ chất (khi biết được độ ẩm của chúng).

2.1.2. Phương pháp đếm tế bào vi sinh vật trên các vết bôi đã được cố định và nhuộm màu (của Sulghin – Brid – Vinnogradxki)

Từ mẫu đất phân tích chuẩn bị dịch huyền phù có độ pha loãng 10^{-1}, lấy 0,1 ml cho vào tiêu bản, thêm 1 giọt dung dịch thạch 0,03% vô trùng, dùng que cấy đầu tròn đã vô trùng trộn nhanh chúng rồi phân bố đều trên tiêu bản diện tích 4 cm^2. Vết bôi được làm khô trong không khí, cố định trong 20 – 30 phút bằng cồn tuyệt đối và nhuộm màu bằng cacbon – eritrozin trong thời gian 40 phút hoặc có thể để qua đêm. Sau đó rửa cẩn thận tiêu bản trong chậu thủy tinh bằng nước lã cho đến khi nhúng tiêu bản vào nước không thấy phai màu. Tiêu bản chuẩn bị xong được sấy khô trong không khí, sau đó mang quan sát dưới kính hiển vi. Sử dụng vật kính dầu qua các ô vuông của lưới thị kính được lắp ở trong thị kính. Tính toán số lượng qua 50 – 100 ô vuông của lưới kính (không nhỏ hơn 10).

Số lượng tế bào vi sinh vật có trong 1g đất khô tuyệt đối được tính theo công thức :

$$y = \frac{x \cdot 100}{100 - D}$$

Trong đó :

y : số lượng tế bào vi sinh vật có trong 1g đất khô tuyệt đối

x : số lượng tế bào vi sinh vật có trong 1g đất ban đầu khi phân tích

D : độ ẩm của đất (%)

Ưu điểm của phương pháp này là sử dụng các vết bôi cố định nên cho phép giữ được tiêu bản lâu dài và có thể đếm số lượng vi sinh vật vào bất kì thời gian thuận tiện nào.

2.2. Phương pháp đếm gián tiếp số lượng vi sinh vật trên môi trường đặc và môi trường dinh dưỡng lỏng (phương pháp pha loãng tới hạn)

Phương pháp này có ưu điểm là chỉ đếm những tế bào sống phát triển trên môi trường dinh dưỡng đặc hay lỏng ở các độ pha loãng khác nhau của mẫu. Nó cho phép phân biệt được các nhóm sinh lí và nhóm phân loại của vi sinh vật. Phân lập các nhóm thuần khiết để nghiên cứu chi tiết các đặc điểm hình thái, sinh lí, sinh hóa và đặc điểm huyết học để xác định loài. Tuy nhiên, phần lớn các trường hợp không thể phát hiện được tất cả các vi sinh vật khác nhau của đất (cơ chất) trên một loại môi trường vì chúng có những khác biệt với nhau rất lớn về sinh lí. Vì vậy, phải có những môi trường riêng biệt thích hợp với từng nhóm vi sinh vật, phù hợp với mục tiêu nghiên cứu.

Số lượng vi sinh vật có trong 1 g đất hay 1 ml được biểu thị bằng đơn vị CFU/g hay ml (Colony Forming Unit – Đơn vị hình thành khuẩn lạc) là số khuẩn lạc được hình thành từ một cơ thể vi sinh vật (tế bào) ban đầu trên môi trường cấy trong điều kiện phù hợp mà mắt thường có thể quan sát được.

2.2.1. Xác định số lượng vi sinh vật cấy trên môi trường đặc

Phương pháp này được sử dụng rộng rãi để xác định số lượng vi sinh vật có trong đất (hay cơ chất nào đó). Ưu điểm của phương pháp này là cho phép đánh giá được

sự khác nhau của chúng dựa vào hình thái các khuẩn lạc phát triển trên môi trường đặc trưng trong hộp petri ứng với một thể tích xác định dịch huyền phù cần nghiên cứu.

Sau một thời gian nuôi cấy vi sinh vật (mục 1.5.1), mang các hộp petri ra xác định, đếm khuẩn lạc mọc trên môi trường nuôi cấy ở các độ pha loãng khác nhau. Độ chính xác của phương pháp phụ thuộc vào số lượng khuẩn lạc được tính chứ không phải số lần lặp lại. Độ pha loãng được coi là tốt nhất để cấy trên môi trường đặc là khi phát hiện từ 50 đến 300 khuẩn lạc/hộp petri. Nếu số lượng khuẩn lạc này nhỏ hơn 10 thì kết quả phải loại bỏ. Số lượng tế bào vi sinh vật có trong 1 g đất khô hoặc cơ chất được tính theo công thức :

$$B = \frac{A \, . \, DF}{W}$$

Trong đó :

B : số lượng CFU/g đất khô hay cơ chất

A : số lượng CFU trung bình ở độ pha loãng tốt nhất (50 – 300 CFU/hộp petri)

DF : độ pha loãng

W : khối lượng khô của 1g đất (cơ chất) phân tích.

2.2.2. Phương pháp xác định số lượng vi sinh vật nuôi cấy trong môi trường lỏng

Sau một thời gian nuôi trong tủ ấm (mục 1.5.2.), lấy ra xác định số lượng vi sinh vật theo bảng MPN (Table of most probable numbers – số lượng có khả năng nhất).

Cách tra bảng : trước tiên cần ghi kết quả cụ thể sự xuất hiện vi sinh vật ở mỗi độ pha loãng của mẫu sau đó mới tra bảng. Ví dụ : ở mỗi độ pha loãng lấy lặp lại 5 lần ống nghiệm sau khi nuôi cấy, kết quả xác định số xuất hiện có khả năng nhất theo mẫu bảng :

Độ pha loãng	Số ống nghiệm phát hiện thấy vi sinh vật	Chỉ số
10^{-2}	5	
10^{-3}	5	1
10^{-4}	3	2
10^{-5}	2	3
10^{-6}	0	

Như vậy, chỉ số xuất hiện là 5, 3, 2 ở độ pha loãng trung bình là 10^{-4}. Từ đó tra bảng có số 1,4. Cách tra bảng 3.

– Tìm chỉ số $N_1 = 5$; $N_2 = 3$, hai chỉ số này thẳng hàng ngang, tìm $N_3 = 2$ rồi chiếu thẳng dọc chỉ số 2 ở N_3 vuông góc với chỉ số 5, 3 ở hàng ngang sẽ được số 1,4. Chỉ số này là số lượng có khả năng nhất của vi sinh vật được nuôi cấy ở độ pha loãng trung bình của dịch nuôi cấy (10^{-4}). Vậy độ pha loãng 10^{-4} có số lượng vi sinh vật là 14.000 CFU/g đất hoặc cơ chất (1,4 × 10.000 = 14.000). Nếu biết được độ ẩm của mẫu có thể tính được số lượng của vi sinh vật trong 1 g đất khô hoặc cơ chất khô.

BẢNG 3. XÁC ĐỊNH SỐ LƯỢNG CÓ KHẢ NĂNG NHẤT
(Table of most probable numbers – MPN)

Số chỉ số		N_3					
N_1	N2	0	1	2	3	4	5
0	0	–	0,018	0,036	0,054	0,072	0,090
0	1	0,018	0,036	0,055	0,073	0,091	0,110
0	2	0,037	0,055	0,074	0,092	0,110	0,130
0	3	0,056	0,074	0,093	0,110	0,130	0,150
0	4	0,075	0,094	0,110	0,130	0,150	0,170
0	5	0,094	0,110	0,130	0150	0,170	0,190
1	0	0,020	0,040	0,060	0,080	0,100	0,120
1	1	0,040	0,061	0,081	0,100	0,120	0,140
1	2	0,061	0,082	0,100	0,120	0,150	0,170
1	3	0,083	0,010	0,130	0,150	0,170	0,190
1	4	0,110	0,130	0,150	0,170	0,190	0,220
1	5	0,130	0,150	0,170	0,190	0,220	0,240
2	0	0,045	0,068	0,091	0,120	0,140	0,160
2	1	0,068	0,092	0,120	0,140	0,170	0,190
2	2	0,093	0,120	0,140	0,170	0,190	0,220
2	3	0,120	0,140	0,170	0,200	0,220	0,250
2	4	0,150	0,170	0,200	0,230	0,250	0,280
2	5	0,170	0,200	0,230	0,260	0,290	0,320
3	0	0,078	0,110	0,130	0,160	0,200	0,230
3	1	0,110	0,140	0,170	0,200	0,230	0,270
3	2	0,140	0,170	0,200	0,240	0,270	0,310
3	3	0,170	0,210	0,240	0,280	0,310	0,350
3	4	0,210	0,240	0,280	0,320	0,360	0,400
3	5	0,250	0,290	0,320	0,370	0,410	0,450
4	0	0,130	0,170	0,210	0,250	0,300	0,360
4	1	0,170	0,210	0,260	0,310	0,360	0,420
4	2	0,220	0,260	0,320	0,380	0,440	0,500
4	3	0,270	0,330	0,390	0,450	0,520	0,590
4	4	0,340	0,400	0,470	0,540	0,620	0,690
4	5	0,410	0,480	0,560	0,640	0,720	0,810
5	0	0,230	0,310	0,430	0,580	0,760	0,950
5	1	0,330	0,460	0,640	0,840	1,100	1,300
5	2	0,490	0,700	0,950	1,200	1,500	1,800
5	3	0,790	1,100	1,400	1,800	2,100	2,500
5	4	1,300	1,700	2,200	2,800	3,500	4,300
5	5	2,400	3,500	5,400	9,200	16,00	–

3. Phương pháp xác định một số nhóm vi sinh vật chính trong đất

3.1. Xác định vi sinh vật tổng số trên môi trường TPA : nước chiết thịt (T) – pepton (P) – agar (A –thạch)

Đây là một môi trường giàu chất dinh dưỡng cho phép nhiều loại vi sinh vật dị dưỡng phát triển như : các vi khuẩn gram âm không sinh nội bào tử thuộc các giống *Pseudomonas, Flavobacterium* và *Achoromobater* ; các trực khuẩn gram dương sinh

bào tử thuộc giống *Bacillius*, cầu khuẩn thuộc các giống *Micrococcus* và *Sarcina*, các loại vi khuẩn phân nhánh giống *Mycobacterium* ; một số xạ khuẩn bậc cao giống *Actinomyces, Streptomyces* và các nấm khuẩn ti như : *Aspergillus, Penicillum, Trichoderma, Alternaria*.

Thành phần môi trường TPA (g/l)

Nước chiết thịt	0.10
Pepton	10,0
NaCl	5,0
Agar	20,0
pH	7,4 – 7,6 điều chỉnh bằng NaOH 10%

– Các bước tiến hành chuẩn bị nuôi cấy như đã trình bày ở các phần trên.

– Nhiệt độ nuôi cấy 28 – 30°C, đếm kết quả vào ngày thứ 3 và thứ 4. Xác định số lượng theo công thức (2.2.1).

3.2. Xác định số lượng vi khuẩn (Bacteria)

* *Môi trường nuôi cấy : Asparagin – manitol – agar*

Thành phần môi trường (g/l) :

K_2HPO_4	1,0
KNO_3	0,5
$MgSO_4.7H_2O$	0,2
$CaCl_2.6H_2O$	0,1
NaCl	0,1
$FeCl_3.6H_2O$	0,005 (vệt)
Asparagin	0,5
Manitol	1,0
Agar	15,0
Nước cất	1l
pH	7,4

– Khử trùng môi trường ở 1atm trong 30 phút.

– Nuôi cấy ở nhiệt độ 28°C trong 7 ngày, sau đó tính kết quả ở các hộp petri có số lượng khuẩn lạc 50 – 300/hộp. Tính toán kết quả theo công thức ở mục 2.2.1.

3.3. Xác định số lượng xạ khuẩn (Actinomyces)

* *Môi trường nuôi cấy 1 : Môi trường Gause 1*

Thành phần môi trường (g/l)

KNO_3	1,0
K_2HPO_4	0,5
$MgSO_4.7H_2O$	0,5
NaCl	0,5

$FeSO_4.7H_2O$	0,01
Tinh bột	20,0
Agar	15,0
Nước cất	1l
pH	7,0 - 7,4

* *Môi trường 2 : Môi trường tinh bột tan*

Thành phần môi trường (g/l) :

Tinh bột	10,0
$NaNO_3$	1,0
K_2HPO_4	0,3
NaCl	0,5
$MgCO_3$	1,0
Agar	15,0
Nước cất	1l

* *Môi trường 3 : Glixerol - Agar*

Thành phần môi trường (g/l)

Glixerol	10,0
Asparaginat natri	1,0
K_2HPO_4	1,0
Agar	15,0
Nước cất	1l
pH	7,4

* *Môi trường 4 : Glucozơ - asparagin*

Thành phần môi trường (g/l)

Glucozơ	10,0
Asparagin	0,5
K_2HPO_4	0,5
Agar	15,0
Tinh bột	20,0
Nước cất	1l
pH	6,8

- Khử trùng môi trường ở 1 atm trong 30 phút

- Nuôi trong tủ ấm nhiệt độ 28 - 30°C, sau 10 ngày xác định khuẩn lạc của xạ khuẩn. Vì khuẩn lạc của xạ khuẩn rất nhỏ, lại bám chặt vào môi trường nuôi cấy nên khi đếm phải dùng que cấy gạt nhẹ trên bề mặt môi trường mới phát hiện được.

- Tính toán số lượng xạ khuẩn cũng theo công thức tính ở mục 2.2.1.

3.4. Xác định số lượng vi nấm ở trong đất

* *Môi trường 1 : Môi trường Czapek (g/l)*

$NaNO_3$	3,0
K_2HPO_4	1,0
KCl	0,5

$MgSO_4.7H_2O$	0,5
Saccarozơ	30,0
$FeSO_4$	0,01
Nước cất	1l
Agar	20,0

– Khử trùng môi trường ở 0,5 atm trong 30 phút. Sau khi khử trùng dùng axit axetic để axit hóa môi trường với tỉ lệ 18 ml axit axetic hoặc axit lactic cho 1 lít môi trường.

– Nuôi trong tủ ấm ở nhiệt độ 28 – 30°C, sau 2 – 3 ngày đếm sơ bộ khuẩn lạc của vi nấm và sau 5 – 7 ngày thì phân biệt rõ đến giống : *Penicillium, Aspergillus, Fusarium, Alternaria...*

* *Môi trường 2 : pepton – glucozơ agar + rose bengal và streptomicin (g/l)*

KH_2PO_4	1,0
$MgSO_4.7H_2O$	0,5
Pepton	5,0
Glucozơ	10,0
Agar	20,0
Nước cất	1l
Rose bengal	1ml ở độ pha loãng 1 : 300 cho 100 ml môi trường
Streptomicin	30 microgam*/ml môi trường

– Dùng nước cất để pha rose bengal và streptomicin. Cách pha như sau :

+ Lấy 1g rose bengal cho vào bình đựng 300ml nước cất. Sử dụng 1ml dung dịch này (1 : 300) cho 100 ml môi trường.

+ Lấy 0,3g steptomicin cho vào bình định mức 100 ml và lên thể tích bằng nước cất, khử trùng dung dịch rồi cất bảo quản trong tủ lạnh. Khi sử dụng lấy 1 ml cho vào 100 ml môi trường. Như vậy, ta được 30 μg streptomicin/ml môi trường.

– Khử trùng môi trường ở 1 atm trong 30 phút.

* *Môi trường 3 : pepton – glucozơ – agar (g/l) :*

Glucozơ	10,0
Pepton	5,0
KH_2PO_4	1,0
$MgSO_4.7H_2O$	0,5
Agar	20,0
Nước cất	1l

– Khử trùng môi trường ở 1atm trong 30 phút. Khi khử trùng xong, nhiệt độ môi trường ổn định ở 48°C thì thêm 1ml H_2SO_4 0,5 N/100 ml môi trường và sử dụng ngay.

* *Môi trường 4 : khoai tây – glucozơ + agar (g/l)*

200g khoai tây và 500 ml nước cất cho vào bình tam giác khử trùng 0,5 atm trong 1 giờ lọc qua vải màn lấy nước và thêm 20g glucozơ – 15g agar bổ sung nước cất cho đủ 1 lít, khử trùng và sử dụng.

* 1 microgam (μg) = 10^{-6}g

Để ức chế sự phát triển của vi khuẩn, ngoài việc sử dụng rose bengal và streptomicin còn có thể sử dụng các chất khác như NaCNS (0,25 - 0,4μg/l), oxitetracilin, clotetracilin (2 - 5 mg/l), neomicin, pholimicin... (50 mg/l).

Sau thời gian nuôi cấy trong tủ ấm, chọn những hộp petri có nấm phát triển từ 50 - 100 CFU/hộp petri để xác định.

Tính toán kết quả số lượng nấm/g đất khô cũng tương tự như đối với vi khuẩn và xạ khuẩn.

3.5. Phương pháp xác định số lượng vi sinh vật tham gia vào chu trình chuyển hóa nitơ

3.5.1. Vi khuẩn amon hóa

* *Môi trường dịch thể thịt - pepton có thành phần (g/l) :*

Pepton	10,0
Cao thịt	5,0
Nước cất	1l
pH	7,0 - 7,4

- Khử trùng môi trường ở 1atm trong 30 phút.

- Nuôi cấy ở 28 - 30°C, sau 5 - 7 ngày lấy ra đọc kết quả. Cách tính kết quả như ở mục 2.2.2.

* *Môi trường 2 : TPA + MN (thịt - pepton - agar + nước mạch nha) dùng để xác định vi khuẩn amon hóa hình thành bào tử (Bacillus)*

Thành phần môi trường (g/l) :

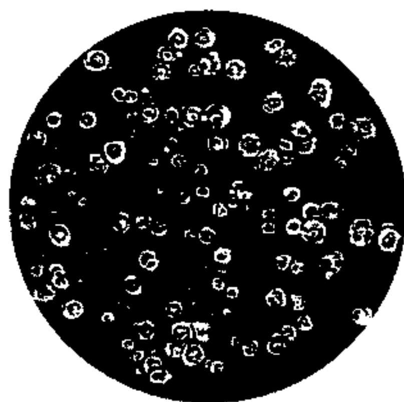
Nước chiết thịt	500 ml
Nước mạch nha	500 ml
Pepton	5,0
NaCl	2,5
Agar	20,0
pH	7 - 7,2

Nước chiết thịt và nước mạch nha theo tỉ lệ 1 : 1.

Dịch nuôi cấy sau khi đã pha loãng ở các mức khác nhau cần phải diệt các vi khuẩn không hình thành bào tử bằng cách đặt các ống nghiệm có chứa dịch pha loãng vào nước nóng ở 80°C trong thời gian 10 phút, sau thời gian khử trùng thì dịch nuôi cấy chỉ còn lại vi sinh vật hình thành bào tử.

- Khử trùng ở 1 atm trong 30 phút.

- Nuôi cấy ở nhiệt độ 28 - 30°C sau 2 ngày, đếm khuẩn lạc sơ bộ, sau đó để ra ngoài tủ ấm trong điều kiện nhiệt độ trong phòng để các nhóm vi khuẩn tự phân li đến loài (hình 33)



Hình 33 – Khuẩn lạc của vi khuẩn mọc trên môi trường TPA

– *B.micodes :* khuẩn lạc nhẵn, phát triển lan bò trên khắp bề mặt của môi trường.

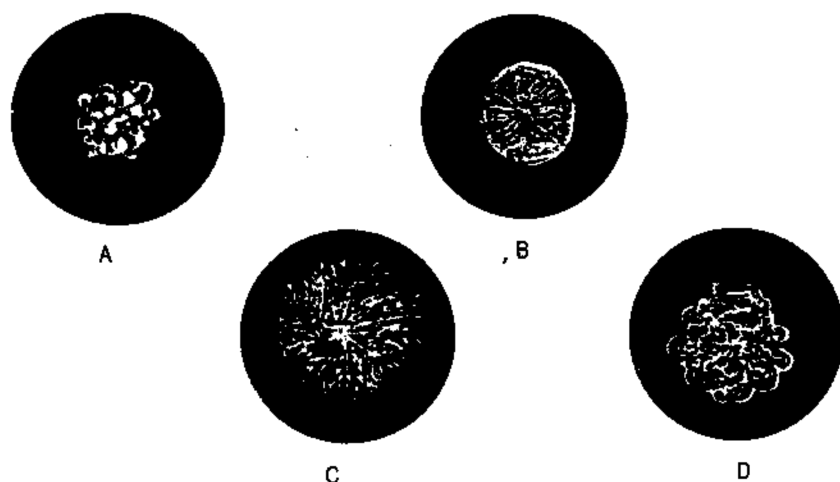
– *B. cereus :* khuẩn lạc nhẵn, phân chia hình sóng ở mép ngoài của khuẩn lạc.

– *B. megatherium :* khuẩn lạc nhẵn, nhày

– *B. aglomeratus :* khuẩn lạc nhỏ, màu trắng hay xám trắng, đôi khi có màu xanh xám ở xung quanh khuẩn lạc.

– *B. idosus :* Khuẩn lạc có màu vàng xám, khô tạo thành màng trên môi trường nuôi cấy.

– *B. mensentericus, B. subtilis* : khuẩn lạc nhăn nheo, khô, màu xám sáng hay màu vàng cà phê (hình 34).



Hình 34 Khuẩn lạc của vi khuẩn hình thành bào tử

A – *B.subtilis* B – *B.idosus*

C – *B.micoides* D – *B.mensentericus*

* *Môi trường 3 : xác định vi khuẩn hình thành bào tử hiếu khí (g/l)*

Agar	20,0
Pepton	1,0
pH	6,8 – 7,0

Trình tự phân lập tiến hành như ở mục 1.3. ; 1.4. và 1.5.1.

Dịch nuôi cấy phải diệt vi sinh vật không hình thành bào tử. Khử trùng ở 1 atm trong 30 phút. Nuôi trong tủ ấm ở nhiệt độ 30°C, sau 4 ngày xác định số lượng vi sinh vật.

3.5.2. Vi khuẩn nitrit hóa

* *Môi trường dịch thể có thành phần (g/l) :*

$(NH_4)_2SO_4$	2,0
K_2HPO_4	1,0
$MgSO_4.7H_2O$	0,5
NaCl	2,0

$FeSO_4$	0,4
$CaCO_3$	3,0
pH	7,0

– Khử trùng ở 1atm trong 30 phút. Nuôi trong tủ ấm ở nhiệt độ 30°C, sau 7 ngày xác định số lượng vi sinh vật. Cách tính kết quả như ở mục 2.2.2.

3.5.3. Vi khuẩn nitrat hóa

* *Môi trường dịch thể Vinogradski có thành phần (g/l) :*

$NaNO_2$	1,0
Na_2CO_3	1,0
NaCl	0,5
KH_2PO_4	0,5
$FeSO_4$	0,4
$MgSO_4.7H_2O$	0,3
pH	7,0

– Khử trùng ở 1 atm trong 30 phút. Nuôi trong tủ ấm ở nhiệt độ 30°C, sau 7 ngày xác định số lượng vi sinh vật. Cách tính kết quả như ở mục 2.2.2.

3.5.4. Vi khuẩn phản nitrat hóa

* *Môi trường dịch thể Giltei có thành phần (g/l) :*

KNO_3	1,0
K_2HPO_4	0,5
$MgSO_4.7H_2O$	0,5
NaCl	0,2
$FeCl_3$	0,01
$(NH_4)_2SO_4$	0,01
pH	7,0 – 7,2

– Khử trùng 1 atm trong 30 phút. Nuôi trong tủ ấm ở nhiệt độ 30°C, sau 2 – 3 tuần xác định số lượng vi sinh vật. Cách tính kết quả như ở mục 2.2.2.

3.5.5. Azotobacter

Đây là nhóm vi sinh vật cố định nitơ sống tự do trong đất ở điều kiện hiếu khí, thường gặp là : *A.chrococcum, A.agile, A.vinelandii.*

* *Môi trường 1 : Môi trường Ashby (g/l)*

Manitol (glucozơ)	20,0
K_2HPO_4	0,2
$MgSO_4.7H_2O$	0,2
NaCl	0,2
$CaSO_4.7H_2O$	0,1
$CaCO_3$	5,0
Agar	20,0
pH	6,5 – 7,0

* *Môi trường 2 (g/l)*

Manitol (glucozơ)	10,0
K_2HPO_4	0,5
$MgSO_4.7H_2O$	0,2
NaCl	0,1
Cao nấm men	1,0
Agar	20,0
Công gô đỏ 1%	2,5 ml
Nước cất	1l
pH	6,8

* *Môi trường 3 : Môi trường Beijerinsk (g/l)*

Manitol (glucozơ)	20,0
K_2HPO_4	0,2
$CaCO_3$	5,0
Agar	15,0
Nước cất	1l

* *Môi trường 4 : Môi trường Vinogradski (g/l)*

Manitol (saccarozơ)	20,0
K_2HPO_4	0,5
$MgSO_4.7H_2O$	0,3
NaCl	0,3
$MnSO_4$	vệt
$(NH_4)_2MoO_4$	vệt
$FeSO_4$	vệt
$CaCO_3$	3,0
Agar	20,0
Nước cất	1l

* *Môi trường 5 : Môi trường Burk (g/l)*

Saccarozơ	20,0
K_2HPO_4	0,64
KH_2PO_4	0,16
$MgSO_4.7H_2O$	0,2
NaCl	0,2
Na_2MoO_4	vệt
$CaSO_4.2H_2O$	0,05
$FeSO_4.7H_2O$	0,03
Agar	20,0
Nước cất	1l

Mọi thao tác chuẩn bị mẫu phân tích theo mục 3.1. Khử trùng môi trường ở điều kiện 1 atm trong 30 phút, phân chia môi trường vào các hộp petri đã khử trùng. Kiểm tra độ sạch của môi trường sau 2 ngày để trong tủ ấm ở nhiệt độ 28 - 30°C. Chỉ sử dụng các hộp petri chứa môi trường không phát hiện thấy tạp nhiễm. Nuôi cấy ở nhiệt độ 28 - 30°C, sau 5 - 7 ngày đọc kết quả. Cách tính kết quả như mục 2.3.1.

3.5.6. Xác định Clostridium pasteurianum

Là vi khuẩn cố định nitơ tự do sống trong điều kiện yếm khí, phân bố rộng trong đất.

Trình tự phân lập tiến hành ở 1.3. ; 1.4. và 1.5.2.

Môi trường dịch thể Vinogradski (g/l) :

Glucozơ	10,0
K_2HPO_4	1,0
$MgSO_4.7H_2O$	0,5
NaCl	0,5
$FeSO_4$	vệt
$MnSO_4$	vệt
Nước cất	1l

Cho vào ống nghiệm một lượng nhỏ $CaCO_3$, rồi cho môi trường vào và khử trùng cấy dịch thể nghiên cứu. Nuôi trong tủ ấm 28 - 30°C, sau 5 - 7 ngày, xác định số lượng vi khuẩn. Trong trường hợp phát hiện thấy *C.pasteurianum* thì ống nghiệm có bọt váng. Tính kết quả theo bảng MNP (Table of Most Protable Numbes) mục 2.2.2.

3.5.7. Rhizobium

* *Môi trường YMA (Yeast - manitol - agar) có thành phần như sau (g/l) :*

Mannit	10,0
K_2HPO_4	0,5
$MgSO_4.7H_2O$	0,2
NaCl	0,1
Cao nấm men	0,4
Thạch	20,0
Nước cất	1l
pH	6,6 - 7,0

Có thể bổ sung thêm 3g $CaCO_3$ vào môi trường giữ giống.

Xác định *Rhizobium* trên môi trường chọn lọc và môi trường chỉ thị :

- Môi trường chọn lọc : môi trường YMA có bổ sung 10 ml dung dịch đỏ Công gô 2,5%.

- Môi trường chỉ thị : môi trường YMA có bổ sung thêm 5ml Bromothimol xanh (BTB) nồng độ 2,5%.

Khử trùng môi trường ở điều kiện 1 atm trong 30 phút. Nuôi cấy ở nhiệt độ 28 - 30°C. Sau 2 - 3 ngày trên bề mặt thạch xuất hiện các khuẩn lạc không màu hoặc có màu trắng trong, hơi nhày, trơn bóng. Cách tính kết quả như mục 2.3.1.

Tiến hành xác định chủng *Rhizobium* bằng cách cấy tất cả các chủng ở trên lên môi trường YMA có bổ sung dung dịch đỏ Công gô và Bromothimol xanh (BTB). Nếu tất cả các chủng đó đều bắt màu vàng của Bromothimol xanh thì đó là chủng *Rhizobium* mọc nhanh.

3.6. Xác định số lượng nhóm vi sinh vật phân giải hợp chất photpho khó tan

– Môi trường sử dụng để xác định số lượng vi sinh vật phân giải các hợp chất photpho khó tan : môi trường Pikovskaia.

Thành phần môi trường (g/l)

Glucozơ	10,0
$Ca_3(PO_4)_2$	5,0
$(NH_4)_2SO_4$	0,5
NaCl	0,2
$MgSO_4.7H_2O$	0,1
KCl	0,2
Cao nấm men	0,5
$MnSO_4$	vệt
$FeSO_4.7H_2O$	vệt
Agar	20g
Nước cất	1l
pH	7,0

Khử trùng môi trường ở 1atm trong 30 phút.

Tính kết quả :

– Chỉ đếm các vi sinh vật có vòng phân giải bao quanh khuẩn lạc, còn các vi khuẩn không có vòng bao quanh khuẩn lạc là vi khuẩn tạp, loại bỏ.

– Chỉ tính kết quả ở các hộp petri có chứa 50 – 300 khuẩn lạc.

– Số lượng vi sinh vật/g (ml) đất hay cơ chất được tính theo công thức như mục 2.2.1.

3.7. Xác định vi sinh vật phân giải xenlulozơ

– Cần phải chuẩn bị : giấy lọc có đường kính tương đương với đường kính của hộp petri.

** Môi trường : Môi trường Hutchinson*

Thành phần môi trường (g/l)

KNO_3	2,5
K_2HPO_4	1,0
$MgSO_4$	0,3
$CaCl_2$	0,1
NaCl	0,1
$FeCl_3$	0,01
Agar	15,0
Nước cất	1l
pH	7,2 – 7,3

Dùng Na_2CO_3 20% để điều chỉnh pH.

Khử trùng trong nồi hấp với áp suất 1 atm trong thời gian 30 phút. Đổ môi trường vào hộp lồng đã chuẩn bị trong khi môi trường còn ở dạng lỏng (45°C) trong điều kiện vô trùng. Việc cấy dịch huyền phù ở mỗi độ pha loãng thích hợp vào hộp petri môi trường được tiến hành như ở mục 2.2.1. Sau khi đã cấy dịch huyền phù vào hộp petri, ta dùng kẹp sắt vô trùng gắp một giấy lọc tròn (tương đương với độ rộng của hộp petri) đã vô trùng đặt lên bề mặt thạch của hộp và dùng que cấy vi sinh vật gạt đều trên giấy lọc sao cho giấy lọc phải ép sát vào bề mặt thạch của hộp là được. Đặt vào trong tủ ấm, nuôi cấy ở nhiệt độ 28 – 30°C. Sau 10 – 14 ngày đem xác định.

– Đánh giá kết quả : vi sinh vật phân giải xenlulozơ được tính là các khuẩn lạc mọc trên khoang giấy lọc, và số lượng vi sinh vật (B) trong 1 g đất khô (cơ chất) được tính theo công thức :

$$B = \frac{A \cdot DF}{W}$$

Trong đó : A : số lượng khuẩn lạc trung bình/hộp petri

DF : độ pha loãng

W : khối lượng khô của 1 g mẫu đất (cơ chất) khi phân tích.

Chú ý :

– Số lượng khuẩn lạc trung bình được tính là trung bình cộng số khuẩn lạc của các hộp được cấy từ cùng một độ pha loãng, trong đó chỉ tính các hộp petri có 50 – 300 khuẩn lạc.

– Số lượng khuẩn lạc trung bình cũng có thể được tính từ trung bình cộng số khuẩn lạc của các hộp được cấy từ 2 độ pha loãng kế tiếp nhau bằng cách tính số khuẩn lạc trung bình của mỗi độ pha loãng trong đó số khuẩn lạc ở độ pha loãng cao hơn được nhân với 10, sau đó lấy trung bình cộng của 2 giá trị nêu trên nếu tỉ số giữa giá trị lớn và giá trị nhỏ không lớn hơn 2. Nếu tỉ số này lớn hơn 2 thì lấy giá trị nhỏ làm kết quả.

4. Phương pháp chuẩn bị một số môi trường

4.1. Nước chiết thịt

1 kg thịt bò (thịt trâu, lợn cũng được nhưng không tốt bằng thịt bò) nạc, lọc bỏ hết gân và bạc nhạc, mỡ, thái nhỏ cho vào cối xay thịt xay nhỏ. Cho vào xoong, thêm 2 lít nước để tiến hành chiết trong điều kiện mát lạnh (để ở tủ lạnh, ngăn làm mát) 24 giờ. Đun nhỏ lửa, liên tục đến khi sôi, duy trì nhiệt độ sôi trong 30 phút. Lọc lấy nước và tiếp tục bổ sung nước cất cho đủ 2 lít và phân vào bình bảo quản, nhưng trước đó phải khử trùng ở 1,5 – 2 atm trong thời gian 20 phút.

4.2. Nước mạch nha

Có thể hoàn toàn chủ động làm trong phòng thí nghiệm. Ngâm nước cho nảy mầm, độ dài mầm tốt nhất 1 – 2cm. Tách lấy mầm và sấy khô. Lấy 250 ml mẫu

khô nghiền nhỏ và cho 1 lít nước để ngâm, duy trì ở nhiệt độ 45°C (để ở nồi cách thủy, trong tủ ấm hay đun nhỏ lửa trên bếp). Khuấy liên tục trong 30 phút, sau đó điều chỉnh nhiệt độ tăng đến 65°C và duy trì trong 1 giờ. Trong thời gian này enzim diastaza sẽ đường hóa tinh bột. Kiểm tra quá trình đường hóa tinh bột bằng cách sử dụng dung dịch iot. Sau khi đường hóa tinh bột xong đem lọc lấy nước và có thể làm đặc lại bằng cách cô cho bốc hơi nước, tỉ lệ đường là 10%.

4.3. Nước chiết đất

Dùng để phát hiện nhiều nhóm vi sinh vật : lấy 1 kg đất màu mỡ (hay đất nghiên cứu) cho 1 lít nước sạch khử trùng ở 120°C trong 30 phút sau đó đem lọc thu được dịch và khử trùng. Nếu dịch ở dạng kiềm thêm 0,5 g K_2HPO_4.

PHẦN II

PHÂN TÍCH NƯỚC

Nước là nguồn tài nguyên thiên nhiên quý giá, là yếu tố không thể thiếu được cho mọi hoạt động sống trên Trái Đất. Tuy nhiên quá trình đô thị hóa, công nghiệp hóa và thâm canh trong nông nghiệp ngày càng phát triển đã ảnh hưởng xấu đến nguồn tài nguyên này. Nhiều nơi nguồn nước bề mặt, thậm chí cả nước ngầm đã bị ô nhiễm gây nguy hiểm đối với sức khỏe của con người. Trong thực tiễn sản xuất nông nghiệp khi sử dụng nguồn nước bị ô nhiễm đã có tác hại lớn đến năng suất và phẩm chất cây trồng và vật nuôi.

Trong phần này, chúng tôi giới thiệu một số phương pháp xác định một số chỉ tiêu quan trọng nhất để đánh giá chất lượng nước.

XÁC ĐỊNH MỘT SỐ TÍNH CHẤT HÓA HỌC CỦA NƯỚC

1. Lấy mẫu và bảo quản mẫu nước

Tùy thuộc vào mục đích nghiên cứu mà người ta sử dụng cách lấy mẫu một lần hoặc lấy mẫu hàng loạt. Lấy mẫu một lần thường sử dụng để đánh giá chất lượng nước ngầm ở sâu dưới đất, có thành phần ổn định. Lấy mẫu hàng loạt thường sử dụng khi đánh giá chất lượng nước bề mặt ở những nguồn nước có chất lượng thường thay đổi theo địa điểm và thời gian.

Để lấy được mẫu nước đại diện cần lưu ý đến vị trí nơi lấy mẫu. Khi lấy mẫu nước ngầm và nước bề mặt cần nghiên cứu kĩ địa hình, các nhánh sông chảy vào sông chính, các nguồn gây bẩn ở những địa hình cao hơn chỗ lấy mẫu. Đối với nước thải chỉ chọn chỗ lấy mẫu khi đã biết rõ kĩ thuật của nhà máy hoặc nơi tập trung thải bỏ đối với nước thải dân dụng, sinh hoạt.

Lượng nước lấy tùy thuộc vào mục đích nghiên cứu, thông thường là 1 – 2 lít.

Mẫu nước lấy xong được đựng trong bình polietilen. Các chỉ tiêu : nhiệt độ, pH và các khí hòa tan như : O_2, CO_2, H_2S, Cl_2... cần được xác định ngay. Mẫu nước để phân tích các chỉ tiêu khác cần được bảo quản theo những yêu cầu nghiêm ngặt

của từng phương pháp, ví dụ để xác định Ag^+ : trong 1 lít nước thường thêm vào 5ml HNO_3 đặc ; để xác định nhôm : dùng HCl đặc với lượng 5ml/lít nước...

2. Xác định pH

Nước thiên nhiên thường có phản ứng trung tính, hay axit nhẹ hoặc kiềm nhẹ, giá trị pH của chúng nằm trong giới hạn từ 5 đến 9.

Nước thải có giá trị pH thay đổi, đặc biệt là ở khu vực các nhà máy hóa chất (nước thường có phản ứng axit), nhà máy dệt (nước thường có phản ứng kiềm)...

Tùy thuộc vào mục đích sử dụng của từng loại nước, ở từng nước có các yêu cầu về giá trị pH của nước có khác nhau : nước sinh hoạt thường có pH từ 6,2 đến 8,5 ; nước sử dụng trong nông nghiệp có thể có pH trong khoảng 4,5 - 9,0.

Để xác định pH của nước, hiện nay dùng chủ yếu là máy đo pH với điện cực chỉ thị là điện cực thủy tinh, điện cực so sánh là cực calomen.

3. Xác định oxi hòa tan (DO)

Lượng oxi hòa tan trong nước rất nhỏ, thường khoảng 8–10ppm. Độ bão hòa của oxi hòa tan trong nước ngọt sạch ở 0^oC là 14 - 15ppm. Thông thường lượng oxi hòa tan trong nước chỉ chiếm 70 - 85% lượng bão hòa. Mức oxi hòa tan trong nước thiên nhiên và nước thải phụ thuộc vào các hoạt tính sinh hóa, hóa học và lí học trong nước. Sự phân tích DO là một trong những chỉ tiêu quan trọng về sự ô nhiễm của nước, kiểm tra những hoạt tính và sự xử lí chất thải.

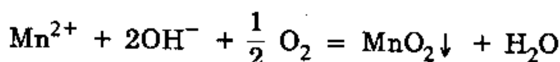
Để xác định oxi hòa tan có thể sử dụng các phương pháp :

- Phương pháp cải tiến azid.
- Điện cực màng nhạy với oxi và máy đo.

Phương pháp cải tiến azid : Phương pháp được dùng cho mẫu nước cống đặc, những mẫu nước sông...

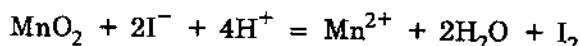
– *Nguyên lí của phương pháp :*

Trong môi trường kiềm Mn^{2+} bị oxi hòa tan trong nước oxi hóa đến Mn^{4+} dưới dạng MnO_2.



$$Mn^{2+} + 2OH^- + \frac{1}{2} O_2 = MnO_2\downarrow + H_2O$$

Khi có mặt H^+ , Mn^{4+} bị I^- khử đến Mn^{2+}



$$MnO_2 + 2I^- + 4H^+ = Mn^{2+} + 2H_2O + I_2$$

Dùng $Na_2S_2O_3$ chuẩn lượng I_2 giải phóng ra với chỉ thị hồ tinh bột, từ đó xác định được lượng oxi hòa tan.

– *Trình tự phân tích :*

Lấy 300ml mẫu nước cho vào chai 300ml.

Thêm 2ml dung dịch $MnSO_4$ và 2ml dung dịch I^-.

Đậy nút và dốc ngược chai 15 lần để trộn đều các dung dịch.

Thêm cẩn thận 2ml H_2SO_4 đặc vào (cho chảy theo thành chai) rồi lại đậy nút và dốc ngược chai vài lần.

Lấy 204ml dung dịch (tương ứng với 200ml mẫu nước) cho vào bình tam giác, thêm vào 3 - 4 giọt chỉ thị hồ tinh bột rồi chuẩn độ bằng dung dịch $Na_2S_2O_3$ 0,025N đến khi dung dịch mất màu xanh và trở nên trắng ngà.

- Tính kết quả :

Lượng oxi hòa tan được tính theo mg/l. Cứ 1ml dung dịch $Na_2S_2O_3$ 0,025N tương đương với 0,200mg DO.

- Hóa chất :

Dung dịch $MnSO_4$: Hòa tan 480g $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ hay 400g $MnSO_4 \cdot 2H_2O$ hoặc 364g $MnSO_4 \cdot H_2O$ trong nước cất, lọc và định mức đến 1 lít.

Dung dịch I^- trong kiềm : Hòa tan 500g NaOH (hay 700g KOH) và 135g NaI (hay 150g KI) trong nước cất và định mức đến 1lít. Thêm vào dung dịch này 10g NaN_3 đã hòa tan trong 40ml nước cất.

H_2SO_4 đặc 36N.

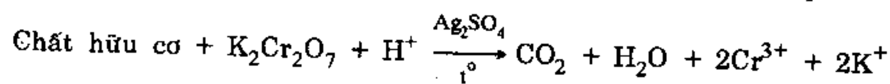
Hồ tinh bột 1% (có thêm một vài giọt focmaldehyt).

Dung dịch $Na_2S_2O_3$: Hòa tan 6,205g $Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$ trong nước cất mới sôi rồi làm lạnh bằng nước cất, thêm nước đến 1 lít (có thể bảo quản bằng cách thêm vào 0,4g NaOH/lít).

4. Xác định nhu cầu oxi hóa học (COD)

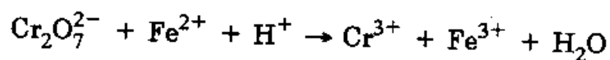
Chỉ số này được dùng để đặc trưng cho hàm lượng chất hữu cơ của nước thải và sự ô nhiễm của nước tự nhiên. COD là lượng oxi cần thiết cho quá trình oxi hóa hóa học các chất hữu cơ trong mẫu thành CO_2 và nước.

Để xác định COD người ta thường sử dụng một chất oxi hóa mạnh trong môi trường axit, hay dùng nhất là kali đicromat. Khi đó xảy ra phản ứng :



$$\text{Chất hữu cơ} + K_2Cr_2O_7 + H^+ \xrightarrow[t^o]{Ag_2SO_4} CO_2 + H_2O + 2Cr^{3+} + 2K^+$$

Lượng dư $Cr_2O_7^{2-}$ được chuẩn độ bằng dung dịch muối Mohr hoặc dung dịch muối Fe^{2+} với chỉ thị là ferroin.



$$Cr_2O_7^{2-} + Fe^{2+} + H^+ \rightarrow Cr^{3+} + Fe^{3+} + H_2O$$

Chỉ thị chuyển từ màu xanh lam sang đỏ nâu.

- Trình tự phân tích :

Lấy 20ml mẫu cho vào bình hồi lưu rồi thêm vào $HgSO_4$ (10mgCl^- thì 0,1g $HgSO_4$).

Thêm vào 10ml dung dịch $K_2Cr_2O_7$ 0,25N và một vài hạt thủy tinh.

Lắp ống sinh hàn thủy tinh nhám.

Thêm vào từ từ 30 ml H_2SO_4 đặc có chứa Ag_2SO_4 qua phần cuối ống sinh hàn và lắc đều hỗn hợp trong khi thêm axit.

Đun hồi lưu trong 2 giờ.

Để nguội và rửa sinh hàn hồi lưu bằng nước cất.

Pha loãng hỗn hợp bằng nước cất tới thể tích khoảng 150ml ; để nguội.

Chuẩn lượng đicromat dư bằng muối Fe^{2+}, dùng chỉ thị ferroin (điểm cuối của quá trình chuẩn độ màu chuyển từ xanh lam sang màu nâu đỏ nhạt).

Đồng thời tiến hành thí nghiệm trắng với 20ml nước cất.

– *Tính kết quả :*

$$COD(mg/l) = \frac{(a - b)N \times 8000}{20ml\ mẫu}$$

a : số ml $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 . 6H_2O$ dùng để chuẩn độ mẫu trắng

b : số ml $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 . 6H_2O$ dùng để chuẩn độ mẫu

N : nồng độ đương lượng của dung dịch muối Mohr.

– *Hóa chất :*

$K_2Cr_2O_7$ 0,25N : hòa tan 12,259g $K_2Cr_2O_7$ đã sấy khô 2 giờ ở 103°C trong nước cất và thêm nước đến 1 lít.

H_2SO_4 : H_2SO_4 đặc có thêm 22g Ag_2SO_4 cho 1 chai 9 lít.

Dung dịch muối Mohr 0,1N : Hòa tan 39g $Fe(NH_4)_2.(SO_4)_2 . 6H_2O$ tinh khiết để phân tích trong nước cất, thêm 20ml H_2SO_4 đặc, để nguội rồi định mức đến 1 lít (chuẩn lại dung dịch bằng dung dịch $K_2Cr_2O_7$ chuẩn trước khi dùng).

Chỉ thị ferroin : hòa tan 1,735g 1,10–phenanthrolinđihiđrat cùng với 695mg $FeSO_4.7H_2O$ trong nước và thêm nước đến 100ml.

Ag_2SO_4 tinh khiết để phân tích.

$HgSO_4$ tinh khiết để phân tích.

5. Xác định nhu cầu oxi sinh hóa (BOD)

Nhu cầu oxi sinh hóa là lượng oxi cần thiết sử dụng trong quá trình oxi hóa các chất hữu cơ bởi các vi sinh vật. Trong nước, khi xảy ra quá trình oxi hóa sinh học thì các vi sinh vật sử dụng oxi hòa tan. Vì vậy việc xác định tổng lượng oxi hòa tan cần thiết cho quá trình phân hủy sinh học là một chỉ tiêu quan trọng để đánh giá ảnh hưởng của dòng chảy đối với nguồn nước.

Trong thực tế, người ta không thể xác định lượng oxi cần thiết để phân hủy hoàn toàn chất hữu cơ, mà chỉ cần xác định lượng oxi cần thiết trong 5 ngày đầu ở nhiệt độ ủ 20°C trong phòng tối để tránh quá trình quang hợp, chỉ tiêu này kí hiệu là BOD_5. Chỉ tiêu này đã được chuẩn hóa và được sử dụng ở hầu hết các nước trên thế giới.

– *Phương pháp xác định :*

+ Chuẩn bị dung dịch pha loãng : Nước pha loãng được chuẩn bị ở chai to, rộng miệng bằng cách thổi không khí sạch ở 20°C vào nước cất và lắc nhiều lần cho đến

khi bão hòa oxi, sau đó thêm 1ml dung dịch đệm photphat, 1ml dung dịch magie sunfat, 1ml canxi clorua và 1ml $FeCl_3$, định mức đến 1 lít bằng nước cất.

+ Trung hòa mẫu nước phân tích đến pH = 7 bằng H_2SO_4 1N hay bằng NaOH 1N.

+ Pha loãng mẫu nước trước khi xác định bằng nước hiếu khí đã chuẩn bị trước theo các mức sau :

0,1 – 1,0% đối với những mẫu nước có dòng chảy mạnh.

1 – 5% đối với những mẫu nước cống chưa hoặc đã để lắng.

5 – 25% đối với nước đã bị oxi hóa.

25 – 100% đối với những mẫu nước sông đã bị ô nhiễm.

Khi pha loãng cần hết sức tránh không để oxi bị cuốn theo.

+ Sau khi pha loãng xong cho mẫu vào trong 2 chai để xác định BOD (thường là các chai có thể tích 300ml), đóng kín nút chai, một chai dùng để ủ 5 ngày ở nơi tối tại nhiệt độ 20°C, một chai dùng để xác định DO ban đầu trong mẫu đã pha loãng.

– *Tính kết quả :*

Lượng BOD được tính theo mg O_2/ml :

$$BOD_5 = \frac{D_1 - D_2}{P}$$

Trong đó : D_1 là lượng oxi hòa tan (mg/lít) của dung dịch mẫu đã pha loãng sau 15 phút.

D_2 là lượng oxi hòa tan (mg/lít) trong mẫu sau 5 ngày ủ ở 20°C. P là hệ số pha loãng, được tính như sau :

$$P = \frac{\text{Thể tích mẫu nước đem đi phân tích}}{\text{Thể tích mẫu nước + thể tích nước pha loãng}}$$

Trong một số trường hợp cần phải bổ sung thêm vi sinh vật vào nước pha loãng để đảm bảo đủ mật độ vi sinh vật cho quá trình phân hủy. Khi đó BOD_5 được tính theo công thức :

$$BOD_5 = \frac{(D_1 - D_2) - (B_1 - B_2)\ F}{P}$$

Trong đó D_1, D_2 vẫn có giá trị như công thức trên.

B_1 là lượng oxi hòa tan của nước pha loãng có cấy vi khuẩn trước khi ủ (mg/lít).

B_2 là lượng oxi hòa tan của nước pha loãng có cấy vi khuẩn sau khi ủ (mg/lít).

F là tỉ số giữa thể tích chất lỏng bổ sung vi khuẩn trong mẫu và trong đối chứng :

$$F = \frac{\text{\% (hay ml) chất lỏng bổ sung vi khuẩn trong } D_1}{\text{\% (hay ml) chất lỏng bổ sung vi khuẩn trong } B_1}$$

– *Hóa chất :*

Dung dịch đệm photphat : Hòa tan 8,5g KH_2PO_4, 21,75g K_2HPO_4, 33,4g $Na_2HPO_4.7H_2O$ và 1,7g NH_4Cl trong khoảng 500ml nước cất rồi định mức đến 1 lít. Dung dịch có pH = 7,2.

Dung dịch $MgSO_4$: Hòa tan 22,5g $MgSO_4.7H_2O$ trong nước, định mức đến 1 lít.

Dung dịch $CaCl_2$: Hòa tan 27,5g $CaCl_2$ trong nước, định mức đến 1 lít.

Dung dịch $FeCl_3$: Hòa tan 0,25g $FeCl_3.6H_2O$ trong nước, định mức đến 1 lít.

H_2SO_4 1N , NaOH 1N.

Na_2SO_3 0,025N : Hòa tan 1,575g Na_2SO_3 khan trong 100ml nước cất.

Có thể dùng nước cống đã để lắng 24-36 giờ tại 20°C làm nguồn bổ sung vi sinh vật. Trong 1 lít nước dùng để pha loãng, thêm vào 1 - 2ml nước này.

6. Xác định đồng

Đồng là kim loại màu đỏ, tỉ khối 8,96 ; nhiệt độ nóng chảy 1083°C, nhiệt độ sôi 2543°C, các muối tan là clorua, nitrat, sunfat.

– *Hàm lượng đồng trong nước thiên nhiên và nước thải*

Hàm lượng đồng trong các loại nước thiên nhiên và trong các nguồn nước sinh hoạt thường không lớn, dao động trong khoảng từ 0,001mg/l đến 1mg/l. Gần những xí nghiệp tuyển quặng đồng, hàm lượng có thể lên đến 100mg/l.

Nước thải của các xí nghiệp luyện kim có chứa các lượng đồng khác nhau : Trong các nhà máy sản xuất chì - kẽm : 0,4 - 8,0mg/l ; nhà máy thiếc : 0,1mg/l ; nhà máy molipđen - vonfram hàm lượng Cu trung bình là 27,2 mg/l ; nhà máy niken - coban : 1,0 - 1,5 mg/l

– *Tính độc :*

Khi hàm lượng đồng trong cơ thể người là 10g/kg thể trọng gây nên tử vong, liều lượng 60 - 100mg/kg gây nên buồn nôn, mửa oẹ.

Với cá, khi hàm lượng Cu là 0,002mg/l đã có 50% cá thí nghiệm bị chết.

Với vi khuẩn lam, khi nồng độ Cu là 0,01mg/l làm chúng chết.

Với thực vật, khi hàm lượng Cu là 0,1mg/l đã gây độc, hàm lượng 0,17 - 0,20mg/l gây độc cho củ cải đường, cà chua, đại mạch.

– *Nồng độ giới hạn cho phép*

Với nước uống và hồ chứa : 0,02 - 1,5mg/l tùy theo tiêu chuẩn từng nước

Nước tưới cho cây trồng nông nghiệp : 0,2mg/l riêng với đất rất thiếu đồng có thể dùng nước chứa 5mg Cu/l để tưới trong thời gian ngắn.

– *Phương pháp xác định :* Trong nước, đồng thường tồn tại dưới dạng cation hóa trị II hoặc dưới dạng các ion phức với xianua, tactrat...

Hiện nay để xác định đồng trong nước có thể sử dụng phương pháp so màu quang điện với thuốc thử đietylđithiocarbaminat, hoặc bằng phương pháp cực phổ hoặc quang phổ hấp thụ nguyên tử.

Xác định đồng theo các phương pháp trên tiến hành theo quá trình đã nêu trong chương 11 (Xác định các nguyên tố vi lượng trong đất). Tuy nhiên nếu trong nước

đồng tồn tại dưới dạng phức bền xianua $[Cu(CN)_4^{2-}]$ thì cần phá hủy phức đó bằng cách làm bay hơi mẫu nước sau khi thêm vào mẫu 0,5ml H_2SO_4 đặc, 5ml HNO_3 đặc. Sau khi đã làm bay hơi mẫu nước đến cạn khô, thêm vào phần khô 1ml HCl đặc và lại làm bay hơi lần nữa. Hòa tan phần khô bằng nước cất hai lần rồi tiến hành định lượng Cu^{2+} trong phần nước lọc này. Thông thường mỗi lần xử lí 200 - 250ml mẫu nước.

Vì hàm lượng đồng trong nước thấp nên người ta dùng dung dịch chuẩn chứa 0,001mg Cu/ml hoặc dung dịch chứa 0,05mg Cu/ml.

Có thể dùng phương pháp cực phổ xung vi phân hoặc cực phổ cổ điển dòng khuếch tán để xác định Cu^{2+} trong nước. Nếu trong nước có chứa một lượng đáng kể chất hữu cơ thì thêm vào thể tích nước lấy để phân tích 1 - 2ml H_2SO_4 đặc ; 3 - 5ml HNO_3 đặc và làm bay hơi dung dịch trong tủ hút đến khi xuất hiện hơi SO_3. Nếu dung dịch còn có màu thì lại thêm 5ml HNO_3 đặc, làm bay hơi lần nữa như trên. Quá trình này lặp lại vài lần cho đến khi thu được dung dịch không màu. Sau đó làm bay hơi dung dịch đến khô. Hòa tan phần khô trong nước cất hai lần khi đun nóng, lọc lấy dung dịch để xác định đồng.

7. Xác định chì

Chì là kim loại màu xám tro, tỉ khối 11,33 ; nhiệt độ nóng chảy 327,4°C ; nhiệt độ sôi 1745°C, các muối tan trong nước là clorua, nitrat, axetat.

– *Hàm lượng chì trong nước thiên nhiên và nước thải :* Hàm lượng chì trong nước thiên nhiên rất nhỏ, nằm trong khoảng 0,001 - 0,023 mg/l. Trong nước sinh hoạt cũng có vết chì vì nước chảy qua ống dẫn bằng chì. Trong nước thải của các nhà máy hóa chất và các khu luyện kim chứa lượng đáng kể chì. Ví dụ như nước thải của nhà máy sản xuất chì, kẽm chứa 5,0 - 7,0mg Pb/l ; nước thải của nhà máy sản xuất molipđen, vonfram có hàm lượng chì là 0 - 16,0mg Pb/l.

– *Tính độc*

Khi nồng độ chì trong nước uống là 0,042 - 1,0mg/l sẽ xuất hiện triệu chứng bị đầu độc kinh niên ở người ; nồng độ 0,18mg/l ở động vật máu nóng sẽ có các triệu chứng bị đầu độc kinh niên.

Nếu hàm lượng chì trong nước tưới dùng trong nông nghiệp lớn hơn 5mg/l thì thực vật bị đầu độc.

– *Nồng độ giới hạn cho phép (mg/l)*

Nước uống : 0 - 0,1 tùy theo tiêu chuẩn từng nước

Nước tưới cho trồng trọt : 0,1

Nước dùng cho chăn nuôi 0,05

– *Phương pháp xác định*

Chì trong nước thải có thể ở dưới dạng chất tan, hoặc dạng muối khó tan như sunfat, cacbonat, sunfua.

Mẫu nước lấy để xác định chì cần thêm vào 3ml HNO_3 đặc hoặc 2ml CH_3COOH đặc cho 1 lít mẫu.

Có thể dùng các phương pháp cực phổ, quang phổ hấp thụ nguyên tử hoặc phương pháp so màu quang điện để xác định chì.

Khi xác định chì bằng phương pháp so màu quang điện người ta thường dùng đithizon trong $CHCl_3$ hoặc trong CCl_4 để chiết định lượng chì ; pH = 8 – 9 có dư xianua để che nhiều kim loại khác cũng bị chiết với chì. Thiếc và bismut cản trở phép xác định nên cần phải tách trước chúng trong môi trường axit. Trong môi trường này chì không bị chiết còn lại trong tướng nước.

Xác định chì bằng phương pháp cực phổ. Trong nền NaOH1M, phức $[Pb(OH)_3]$ bị khử thuận nghịch và cho sóng cực phổ với thế bán sóng – 0,76V so với cực calomen bão hòa.

Lấy 25ml mẫu nước (có hàm lượng chì > 0,5 mg/l) cho vào bình định mức 50ml, nếu cần pha loãng để trong 25ml đó chứa khoảng 0,1 – 3mg Pb. Nếu hàm lượng chì thấp thì lấy 250ml mẫu, thêm vào 1ml HNO_3 đặc, làm bay hơi dung dịch trên bếp cách thủy đến khô, hòa tan phần khô trong nước cất và chuyển toàn bộ dung dịch thu được vào bình định mức 50ml. Thêm vào 5ml NaOH và 1ml gelatin. Định mức đến vạch mức bằng nước cất và lắc đều dung dịch. Nếu có kết tủa hiđroxit thì cần để lắng và dùng pipet có quả bóp cao su lấy phần dung dịch trong cho vào bình cực phổ. Cho khí trơ đi qua dung dịch khoảng 10 phút. Ghi cực phổ ở độ nhạy thích hợp từ 0,4V đến 1,0V so với đáy anot Hg. Đo chiều cao của sóng và dựa vào đường chuẩn để xác định hàm lượng chì.

Lập đường chuẩn : Chuẩn bị một loạt 12 bình định mức 50ml và lần lượt thêm vào 0 ; 0,5 ; 1,0 ; 2,0 ; 3,0 ; 4,0 ; 5,0 ; 6,0 ; 8,0 ; 10,0 ; 15,0 ; 20,0 ml dung dịch chuẩn chì gốc.

Tiếp tục tiến hành như với dung dịch phân tích. Ghi cực phổ chì như đã làm ở trên. Để độ nhạy của máy như thế nào để dung dịch có nồng độ lớn nhất (40mg Pb/l) cho sóng cực phổ có chiều cao chiếm gần hết chiều rộng của giấy vẽ.

Ở những mẫu có hàm lượng chì thấp (0,05 – 1mg Pb/l) : lấy 250ml mẫu nước cho vào bát sứ hoặc cốc chịu nhiệt, thêm 1ml HNO_3 đặc, cô cạn đến khô, để nguội rồi thêm 0,5ml HNO_3 đặc và lại cô đến khô. Hòa tan phần khô trong 5ml dung dịch nền (5ml NaOH 10M + 1ml gelatin + 44ml H_2O) rồi đem đi cực phổ.

– *Hóa chất :*

Dung dịch chì chuẩn gốc : Hòa tan 200mg chì tinh khiết phân tích (tkpt) trong 4ml HNO_3 1 : 1 ; đun nóng để chì tan hoàn toàn, để nguội, chuyển vào bình định mức 1 lít. Định mức bằng nước đến vạch mức, được dung dịch chứa 0,200mg Pb^{2+}/1ml. Pha loãng dung dịch này 100 lần, được dung dịch chuẩn sử dụng.

8. Xác định kẽm

Kẽm là kim loại màu trắng bạc, tỉ khối 6,77, nhiệt độ sôi 906,2°C ; các muối clorua, sunfat, nitrat tan trong nước.

– *Hàm lượng kẽm trong nước thiên nhiên và nước thải.* Hàm lượng kẽm trong nước thiên nhiên rất nhỏ, ở Liên Xô (cũ) hàm lượng này nằm trong khoảng 0,0001 – 5,77mg/l. Lượng kẽm trong nước thiên nhiên chủ yếu do các nguồn nước thải đưa vào, đặc biệt nước thải của các nhà máy luyện kim, công nghiệp hóa chất. Ví dụ như nước thải ở nhà máy chì – kẽm có chứa đến 1mgZn/l, còn ở những nhà máy làm giàu luyện kim màu hàm lượng kẽm trong nước thải có thể đến 40 – 50 mgZn/l.

– *Tính độc.* Kẽm và các hợp chất của kẽm nói chung ít gây độc đối với người và động vật có thân nhiệt ổn định khi chúng vào cơ thể dưới dạng thức ăn và nước uống. Theo E.A. Anderson và cộng sự thì khi hàm lượng kẽm trong nước uống từ 11,2 đến 26,6mg/l chuyển vào cơ thể con người không gây bất cứ nguy hại nào đối với sức khỏe.

Đối với sinh vật sống ở nước, tính độc của kẽm đối với cá lớn hơn nhiều so với người và động vật có thân nhiệt ổn định. Nồng độ kẽm trong kẽm sunfat là 0,4mg/l gây tử vong cho cá gai qua 7 ngày đêm.

– *Nồng độ giới hạn cho phép* (mgZn/l) :

Đối với nước uống : 1 – 15, tùy theo tiêu chuẩn từng nước

Nước tưới ruộng : 5

– *Phương pháp xác định.* Để xác định kẽm trong nước có thể dùng các phương pháp cực phổ, quang phổ hấp thụ nguyên tử và phương pháp so màu quang điện với thuốc thử đithizon.

Trình tự phân tích theo các phương pháp trên đã trình bày trong chương 11. Cần chú ý là khi lấy mẫu nước để xác định kẽm nên thêm vào 1 lít nước 1ml H_2SO_4 đặc, trừ trường hợp mẫu có chứa xianua thì không thêm axit.

9. Xác định thủy ngân

Thủy ngân là kim loại có màu trắng bạc, dạng lỏng. Tỉ khối 13,546 ; nhiệt độ nóng chảy 38,89°C, nhiệt độ sôi 356,66°C ; các muối clorua, sunfat, nitrat và clorat của thủy ngân tan trong nước.

– *Hàm lượng thủy ngân trong nước thiên nhiên và nước thải.* Hàm lượng thủy ngân trong nước thiên nhiên rất nhỏ, nằm trong khoảng 0,00003 – 0,0028 mg/l. Ở một số vùng công nghiệp do có sử dụng thủy ngân nhiều nên nồng độ thủy ngân trong các hồ chứa năm 1970 cao hơn so với năm 1935 tới 70 lần.

Thủy ngân có trong nước thải của các nhà máy sản xuất chất màu, dược phẩm, các chất nổ...

– *Tính độc.* Thủy ngân và hợp chất của nó thường rất độc đối với các cơ thể sống.

Thủy ngân sẽ gây độc cho người khi hàm lượng của nó trong nước là 0,005 mg/l ; gây độc cho cá khi hàm lượng của nó trong nước là 0,008mg/l.

– *Nồng độ giới hạn cho phép* (mgHg/l) :

Đối với nước uống : 0,001 – 0,01, tùy theo tiêu chuẩn từng nước.

Nước dùng cho sản xuất nông nghiệp : 0,005.

– *Phương pháp xác định.* Để xác định thủy ngân, thường dùng phương pháp chiết trắc quang đithizon. Phương pháp rất đặc trưng và chọn lọc đối với thủy ngân. Phương pháp cho phép xác định hàm lượng thủy ngân từ vài phần trăm miligam đến hàng chục miligam trong 1 lít nước.

Trong môi trường axit chỉ có bạc, đồng cùng bị chiết với thủy ngân. Để che hai nguyên tố này, dùng complexon III và thioxianat.

Nếu trong nước có các chất hữu cơ có màu, người ta thường chiết tách trước bằng $CHCl_3$; nếu lượng chất hữu cơ lớn thì thường vô cơ hóa chúng bằng cách cho lượng mẫu nước chứa 0,005mg đến 0,1mgHg vào một bình cầu, thêm tiếp 1ml H_2SO_4 đặc và vài giọt dung dịch $KMnO_4$ bão hòa, thêm vài viên đá bọt, lắp vào một ống sinh hàn hồi lưu và cho nước lạnh chảy qua. Đun sôi dung dịch. Nếu dung dịch mất màu thì cho thêm vài giọt $KMnO_4$ nữa qua ống sinh hàn cho đến khi dung dịch còn màu trong 15 phút. Sau khi để nguội dung dịch, tháo ống sinh hàn, thêm vào vài giọt dung dịch hiđroxylamin sunfat đến khi hoàn toàn mất màu tím. Nếu dung dịch có độ axit quá cao hoặc kiềm quá thì cần trung hòa dung dịch đến môi trường axit yếu pH = 4.

– *Trình tự phân tích.* Cho vào phễu chiết lượng mẫu nước chứa 0,005 – 0,1 mgHg, pha loãng bằng nước, nếu cần đến 100ml ; thêm vào 10ml $CHCl_3$, lắc kĩ để phân lớp. Tách bỏ lớp $CHCl_3$ này. Thêm 10ml dung dịch đệm, 10ml complexon III, 10ml KCNS và 25ml đithizon để chiết. Tiến hành chiết trong 2 phút, chỉ cần lắc vừa đủ để phân lớp. Chuyển tướng hữu cơ sang phễu chiết khác đã có sẵn 10ml dung dịch đệm, 10ml complexon III, 10ml KCNS, 10ml nước cất. Khi chuyển không được để cho nước từ phễu thứ nhất sang phễu thứ hai dù là vài giọt. Lắc trong 1 phút để phân lớp. Sau đó chuyển tướng hữu cơ chứa phức thủy ngân đithizonat sang phễu chiết thứ ba chứa 50ml NH_3 5%, lắc đều để rửa hết lượng đithizon dư. Lọc tướng hữu cơ chứa thủy ngân đithizonnat qua phễu lọc sạch, khô. Lượng dung dịch chảy xuống lúc đầu cần bỏ đi ; thu dung dịch cần đo vào cuvet. Đo mật độ quang của dung dịch ở bước sóng 490nm (hoặc dùng kính lọc màu xanh lục). Tiến hành thí nghiệm trắng với 100ml nước cất hai lần và hiệu chỉnh giá trị mật độ quang của mẫu phân tích.

Đường chuẩn được thiết lập tương tự như các kim loại khác, với các dung dịch ứng với 0 ; 0,05 ; 0,10... 1,0 mgHg/l.

Kết quả phân tích được tính tương tự như khi xác định các kim loại khác

– *Hóa chất :*

Dung dịch đệm axetat : hòa tan 57ml CH_3COOH đặc, tinh khiết phân tích và 82g $CH_3COONa.3H_2O$ trong nước cất thành 1 lít.

Complexon III, nồng độ 0,05N : hòa tan 9,72g complexon III trong nước và đưa thể tích đến 1 lít.

KCNS 0,1M.

NH_3 5%.

$CHCl_3$ tinh khiết phân tích hoặc loại mới cất lại.

Đithizon :

Dung dịch gốc : cho 50mg đithizon vào trong phễu chiết đã có 100ml $CHCl_3$, lắc cho đến khi thuốc thử tan hết, thêm 100ml nước cất, 5 - 10ml NH_3 đặc và lắc kĩ trong 2 phút. Để yên cho hai tướng phân lớp, tách bỏ lớp $CHCl_3$. Cho vào phễu 20ml $CHCl_3$ mới, lắc đều và để phân lớp, tách bỏ lớp $CHCl_3$. Thêm vào phễu chiết 200ml $CHCl_3$ khác và dung dịch HCl loãng đến khi dung dịch có phản ứng axit rõ. Lắc đều hỗn hợp cho đến khi toàn bộ lượng đithizon chuyển sang tướng hữu cơ. Chuyển lớp hữu cơ đó sang phễu chiết khác, rửa phần này 3 lần, mỗi lần bằng 50ml nước cất. Chuyển dung dịch vào chai màu tối, đổ lên trên bề mặt một lớp mỏng H_2SO_4 0,5% chứa 0,5% hiđrazin sunfat. Dung dịch bền trong vài tháng (dung dịch phải không có ánh đỏ).

Dung dịch sử dụng : Pha loãng 1 thể tích dung dịch gốc với 4 thể tích $CHCl_3$; để trong chai tối, chỗ mát. Dung dịch bền trong 2 tuần.

Thủy ngân (II) nitrat :

Dung dịch chuẩn gốc nồng độ 1mgHg/ml : Cân 3,336g $Hg(NO_3)_2 \cdot 0,5\ H_2O$ tinh khiết phân tích cho vào trong cốc thủy tinh. Thêm vào 1ml HNO_3 đặc tinh khiết phân tích rồi hòa tan trong nước sau đó định mức đến 1 lít.

Dung dịch chuẩn I chứa 0,25 mgHg/ml : pha loãng từ dung dịch gốc.

Dung dịch chuẩn II chứa 0,005 mgHg/ml : pha loãng 30 lần dung dịch I.

Các dung dịch chuẩn I và II chỉ điều chế ngay trước khi dùng.

10. Xác định nhôm

Nhôm là kim loại màu sáng bạc ; không gặp trong tự nhiên Al nguyên chất mà thường gặp trong các quặng và khoáng có độ tan trong nước khác nhau. Tỉ khối 2,699 ; nhiệt độ nóng chảy 660,1°C, nhiệt độ sôi 2500°C.

– *Hàm lượng nhôm trong nước thiên nhiên và nước thải.* Hàm lượng nhôm trong nước thiên nhiên rất ít, dao động từ 0 và vết đến 242,2mg/l ; trong nước tự nhiên ở Liên Xô (cũ) từ 0,001 đến 10mg/l.

Hàm lượng nhôm trong nước thải của các nhà máy sản xuất nhôm, sản xuất hóa chất, các chất màu, công nghiệp giấy, công nghiệp dệt, công nghiệp cao su tổng hợp có tăng lên.

– *Tính độc :*

Đối với người và động vật có thân nhiệt ổn định : Nhìn chung tác dụng độc của nhôm không đáng kể nhưng rất nhiều hợp chất vô cơ của nó tan trong nước được tích tụ trong các hồ chứa do nước thải công nghiệp xả vào, qua thời gian nguồn nước uống có thể ảnh hưởng đến con người. Độc nhất là các muối nitrat, clorua, axetat, sunfat,... Khi cơ thể thu nhận 0,2 - 0,4 muối axetat nhôm ; 3,7 - 7,3 nhôm hiđroxit (tính theo mg/kg thể trọng) sẽ xuất hiện tác dụng độc.

Đối với cây trồng nông nghiệp : Nhôm bắt đầu gây tác hại với thực vật ở nồng độ 1mg/l.

– *Nồng độ giới hạn cho phép* (mg/l) :

Nước uống từ 0,05 đến 0,5, tùy theo tiêu chuẩn từng nước.

Nước tưới cho cây trồng nông nghiệp : tưới thường xuyên : 1mg/l ; khi tưới ngắn : 20mg/l, ít gây ô nhiễm cho đất.

– *Phương pháp xác định.* Để xác định nhôm trong nước người ta thường dùng phương pháp so màu quang điện với thuốc thử 8 – oxiquinolin hoặc bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử hoặc dùng cực chọn lọc ion.

Xác định nhôm với thuốc thử 8–oxiquinolin

Nguyên lí phương pháp : Trong môi trường axit, nhôm phản ứng với 8–oxiquinolin tạo thành nhôm oxiquinolat. Hợp chất này được chiết bằng $CHCl_3$ cho dung dịch màu vàng.

Mẫu trước khi đem phân tích cần loại bỏ trước các hợp chất hữu cơ và chất màu. Sắt là nguyên tố gây cản trở nhiều nhất cho phép xác định. Dùng amoni pesunfat để oxi hóa toàn bộ sắt có trong mẫu thành sắt (III), sau đó chiết bỏ sắt (III) dưới dạng sắt oxiquinolat bằng cloroform ở pH 1,8 – 2,0. Ở pH này đồng cũng bị chiết với sắt, nhưng nhôm không bị chiết.

Trình tự phân tích. Nếu hàm lượng nhôm trong nước là 0,005 – 0,5mg Al trong 1 lít nước thì lấy khoảng 50 – 100ml mẫu nước cho vào phễu chiết. Thêm vào 0,1 – 0,2g amoni pesunfat, lắc đều cho tan. Để yên vài phút, trung hòa dung dịch bằng axit hoặc kiềm (lượng axit hay kiềm cần dùng để trung hòa được xác định bằng cách chuẩn độ một mẫu riêng với chỉ thị metyl da cam). Thêm HCl 1N (ứng với 50ml dung dịch thì thêm 0,8ml) để đưa pH của dung dịch về 1,7 – 2,0. Thêm 2ml dung dịch 8–oxiquinolin trong $CHCl_3$, lắc kĩ, chiết bỏ lớp cloroform để loại sắt. Thêm 2ml cloroform vào phễu chiết, lại lắc, tách bỏ lớp $CHCl_3$. Lặp lại quá trình chiết này vài lần đến khi lớp $CHCl_3$ tách được không màu. Thêm vào phễu chiết 10ml dung dịch đệm, 3ml dung dịch 8–oxiquinolin trong $CHCl_3$ và chiết để tách nhôm oxiquinolat. Lắc kĩ dung dịch 1–2 phút, để yên đến khi phân lớp hoàn toàn. Chiết lấy phần cloroform màu vàng vào bình định mức 10ml. Thêm tiếp 3ml dung dịch 8–oxiquinolin trong $CHCl_3$ và lắc trong 1 – 2 phút, để phân lớp hoàn toàn, chuyển lớp chiết vào bình định mức. Thêm $CHCl_3$ vào cho tới vạch mức, lắc đều rồi đo mật độ quang của dung dịch với cuvet dầy 3cm tại λ = 390nm (kính lọc màu tím) dung dịch so sánh là mẫu trắng.

Đường chuẩn : Chuẩn bị 7 phễu chiết có dung tích 250–300ml. Thêm lần lượt vào mỗi phễu 0 ; 0,2 ; 1,0 ; 5,0 ; 10,0 ; 15,0 ; 20,0 ml dung dịch chuẩn muối nhôm có nồng độ 0,01mg/ml. Như vậy lượng nhôm có trong các phễu chiết tương ứng là 0 ; 0,002 ; 0,01 ; 0,05 ; 0,1 ; 0,15 ; 0,2 mg Al. Thêm nước vào thành 50ml. Sau đó tiến hành chiết nhôm như đối với dung dịch thí nghiệm.

– *Hóa chất :*

HCl 1M : pha loãng 85ml HCl đặc tinh khiết phân tích bằng nước cất thành 1 lít

8–oxiquinolin (2% trong $CHCl_3$) : hòa tan 2 gam 8–oxiquinolin tinh khiết phân tích trong 50ml $CHCl_3$, thêm $CHCl_3$ đến 100ml.

Dung dịch đệm axetat pH = 4,5 :

Hòa tan 82g CH_3COONa hay 136g ($CH_3COONa.3H_2O$ tinh khiết phân tích vào nước cất, pha loãng thành 1 lít dung dịch (dung dịch 1).

Lấy 60g axit axetic băng tinh khiết phân tích pha thành 1 lít bằng nước cất (dung dịch 2)

Lấy 98ml dung dịch 1 trộn với 100ml dung dịch 2, lắc đều và thêm nước cất đến 1 lít

Amoni pesunfat.

Dung dịch chuẩn muối nhôm có chứa 0,01 - 0,1 mgAl/ml : Hòa tan 1,7582g $KAl(SO_4)_2.12H_2O$ trong nước rồi định mức đến 1 lít, thu được dung dịch 0,1mg Al/ml.

11. Xác định sắt

Sắt là kim loại trắng bạc, tỉ khối 7,874, nhiệt độ nóng chảy 1539°C, nhiệt độ sôi 2870°C, ở trong hồ nước dưới dạng bicacbonat và hiđroxit.

– *Hàm lượng sắt trong nước thiên nhiên và nước thải.* Hàm lượng sắt trong nước thiên nhiên dao động trong một giới hạn lớn từ 0,01 đến 26,1mg/l, tùy thuộc vào nguồn nước và những vùng mà nguồn nước chảy qua. Ngoài ra còn tùy thuộc vào pH và sự có mặt của một số chất như cacbonat, CO_2, O_2 và sự có mặt của chất hữu cơ tan trong nước, chúng sẽ oxi hóa hay khử sắt và có thể làm cho sắt ở dạng hòa tan hay kết tủa.

– *Tính độc.* Đối với người và động vật có thân nhiệt ổn định, sắt ít gây độc. Liều lượng của muối sắt clorua : 890mg/kg thể trọng gây độc cho thỏ ; từ 984 đến 1986mg/kg thể trọng gây độc cho chuột.

– *Nồng độ giới hạn cho phép (mg/l)*

Nước uống : 0,2 - 1,5 : tùy theo tiêu chuẩn từng nước.

Nước thải : 2 - 10 : tùy theo tiêu chuẩn từng nước.

– *Phương pháp xác định :*

Có thể dùng phương pháp so màu với axit sunfosalixilic và o-phenanthrolin. Tuy nhiên khi lấy mẫu nước phải đựng trong bình polietilen và phải phân tích ngay ; đồng thời mỗi 1 lít nước cần được xử lí bằng 25ml dung dịch đệm natri axetat (hòa tan 68g $CH_3COONa.3H_2O$ trong 500ml nước, thêm vào 25ml CH_3COOH 6M). Mẫu để không quá 1 ngày. Để định lượng hàm lượng Fe tổng số thì phải xử lí 1 lít nước bằng 25ml HNO_3 đặc.

Để định lượng các dạng sắt khác nhau người ta có thể tiến hành :

1) Định lượng tổng hàm lượng sắt ở tất cả các dạng sau khi đã dùng axit hòa tan sắt ở dạng kết tủa trong dung dịch.

2) Định lượng sắt hòa tan : lọc bỏ kết tủa, định lượng sắt trong dung dịch.

3) Lượng sắt không tan trong nước được tính bằng hiệu số của cách tiến hành 1) và 2).

4) Lượng Fe (II) trong nước được định lượng bằng o-phenanthrolin nhưng không thêm hiđroxylamin để chuyển Fe^{3+} xuống Fe^{2+}.

12. Xác định mangan

Mangan là kim loại có màu trắng bạc, tỉ khối 7,44 ; nhiệt độ nóng chảy 1245°C ; nhiệt độ sôi 2080°C. Các muối sunfat, clorua, nitrat của mangan tan trong nước.

– *Hàm lượng mangan trong nước thiên nhiên và nước thải*. Hàm lượng Mn trong các sông ở Liên Xô (cũ) nằm trong khoảng 0,001 – 0,16mg/l. Trong nước tự nhiên ở Mĩ hàm lượng Mn từ 0,0003 - 3,23 mg/l (trung bình là 0,058 mg/l), trong nước sinh hoạt trung bình là 0,05mg/l.

Hàm lượng mangan có trong nước tùy thuộc vào nguồn nước, đặc biệt cao là ở các nguồn nước thải của các nhà máy luyện kim và một số nhà máy công nghiệp hóa chất : ở nhà máy chì – kẽm : 1,0 – 1,2mg/l, ở nhà máy làm giàu quặng mangan : 20 – 35,1 mg/l. Trong nước thải sinh hoạt hàm lượng mangan dao động trong giới hạn 0,05 – 0,47 mg/l.

– *Tính độc :*

Có giả thiết cho Mn là tác nhân gây đột biến đối với động vật có thân nhiệt ổn định.

Đối với sinh vật dưới nước, Mn ít gây độc. Theo các dẫn liệu đã biết hàm lượng Mn trong nước gây độc cho bộ chân hai bên là 70 mg/l.

Đối với các cây trồng nông nghiệp, khi hàm lượng Mn là 2 mg/l sẽ có tác dụng độc, đối với đậu : 1 – 10 mg/l, với cà chua : 5 – 10 mg/l.

– *Nồng độ giới hạn cho phép (mg/l)*

Nước uống : từ 0,01 đến 0,5, tùy theo tiêu chuẩn từng nước.

Hồ chứa : Mn (II) : 1,0 ; Mn (IV) : 10.

Nước thải : chảy vào hồ chứa thì hàm lượng Mn nhỏ hơn 1 mg/l.

– *Phương pháp xác định*. Trong nước, Mn thường ở dạng hòa tan và không hòa tan. Ở dạng tan, mangan tồn tại dưới dạng Mn^{2+}, còn ở dạng không hòa tan là kết tủa hiđroxit.

Để xác định tổng hàm lượng mangan trong nước người ta thường dùng phương pháp so màu, trong đó Mn được oxi hóa lên Mn^{7+} dưới dạng MnO_4^- bằng pesunfat.

Khi lấy mẫu nước xác định Mn phải thêm vào mỗi lít nước 5ml HNO_3 đặc.

13. Xác định clo

Clo là chất khí có màu vàng lục, khối lượng riêng 3,214 g/l, nhiệt độ nóng chảy – 101,03°C, nhiệt độ sôi –34,1°C.

Khái niệm clo hoạt động được hiểu là ngoài clo phân tử (Cl_2) còn bao gồm cả clođioxit (ClO_2), cloramin, hipoclorit, clorit ; chúng được xác định bằng phép đo iôt hoặc bằng phương pháp so màu với thuốc thử o–toludin. Phép đo iôt được dùng khi hàm lượng clo hoạt động trong nước trên 1mg/l. Phương pháp so màu được dùng khi hàm lượng clo hoạt động 0,01 – 7mg/l, mẫu phải xác định ngay sau khi lấy.

- *Tính độc :*

Hàm lượng clo tự do là 2,5mg/l không có tác động xấu đối với người. Liều lượng này cũng không gây độc đối với chuột đồng.

Hàm lượng clo tự do lớn hơn 0,008 mg/l gây độc cho các loại cá, còn khi nồng độ này là 0,0035 mg/l làm giảm khả năng sinh sản của Rận nước ở các thế hệ sau ; tác hại của clo tự do tăng lên khi hàm lượng oxi trong nước giảm xuống.

- *Phương pháp xác định.* Định lượng clo hoạt động bằng phép đo iôt : Clo hoạt động tác dụng với I^- giải phóng ra iôt. Dùng dung dịch natri thiosunfat chuẩn lượng iôt tách ra ta tính được hàm lượng clo hoạt động trong nước.

Để loại trừ ảnh hưởng của chất hữu cơ có trong nước đến kết quả xác định, người ta thêm axit CH_3COOH loãng vào dung dịch.

- *Trình tự phân tích :* Lấy mẫu nước cần phân tích với thể tích sao cho thể tích dung dịch $Na_2S_2O_3$ 0,01N dùng để chuẩn không quá 20ml. Thêm vào đây 5ml CH_3COOH đặc, khoảng 1g KI, lắc đều dung dịch, để yên chỗ tối khoảng 5 phút (có đậy nút bình). Chuẩn lượng iôt tách ra bằng dung dịch chuẩn $Na_2S_2O_3$ 0,01N đến khi dung dịch có màu vàng rơm, thêm 1 ml dung dịch hồ tinh bột, dung dịch sẽ có màu xanh, chuẩn độ tiếp tới khi mất màu. Không nên chuẩn độ dưới ánh sáng Mặt trời. Tiến hành chuẩn độ mẫu trắng cùng với mẫu thí nghiệm.

- *Tính kết quả :* Hàm lượng clo hoạt động được tính theo công thức

$$x = \frac{(a - b) \cdot 354{,}5}{V} \quad (mg/l)$$

a : thể tích dung dịch $Na_2S_2O_3$ 0,01N dùng để chuẩn độ mẫu.

b : thể tích dung dịch $Na_2S_2O_3$ 0,01N dùng để chuẩn độ mẫu trắng.

V : thể tích mẫu nước (ml).

- *Hóa chất :*

KI tinh khiết phân tích.

CH_3COOH đặc tinh khiết phân tích.

Natri thiosunfat 0,1N : Hòa tan 25g $Na_2S_2O_3.5H_2O$ tinh khiết phân tích vào nước cất mới đun sôi để nguội, thêm 0,2g Na_2CO_3 lắc đều cho tan hết, định mức đến 1 lít. Dùng phép đo đicromat xác định lại nồng độ dung dịch này. Dung dịch chuẩn có nồng độ 0,01N được pha từ dung dịch trên.

Hồ tinh bột : dung dịch 0,5%.

Clorua. Để xác định clorua trong nước, người ta có thể dùng phương pháp chuẩn độ Mohr. Cơ sở của phương pháp đã trình bày trong chương 10 (phần phân tích đất).

14. Xác định flo

Flo là chất khí màu vàng sáng, khối lượng riêng 1,693 g/l, nhiệt độ nóng chảy – 219,6°C ; nhiệt độ sôi – 188,13°C.

– *Hàm lượng flo trong nước thiên nhiên và nước thải.* Trong nước thiên nhiên hàm lượng flo nằm trong giới hạn 0,01 – 0,3 mg/l ; hàm lượng flo trung bình trong nước uống là 0,25 mg/l, hàm lượng cực đại là 9,7 mg/l.

Trong nước thải của các nhà máy tuyển quặng, luyện kim, hóa chất, dầu mỏ, khai thác gỗ, nhà máy thủy tinh, xi măng, dệt, sơn đều có flo.

– *Tính độc :*

Hàm lượng flo cao gây độc đối với con người. Nồng độ flo trong nước uống nhỏ hơn 1 mg/l gây nên những thay đổi bệnh lí của men răng. Liều lượng gây tử vong cho người là 0,5 g/kg thể trọng, tuy nhiên cũng có những tài liệu cho rằng liều lượng gây tử vong cho người là 2,5 g/kg thể trọng.

Hàm lượng florua cao hơn 1,5 mg/l sẽ gây độc cho cá.

Nồng độ giới hạn cho phép (mgF/ml)

Nước uống : 1,0 – 1,5, tùy theo tiêu chuẩn từng nước

Nước uống dùng trong chăn nuôi : 0,7 – 1,2

Nước thải vào kênh hay vào hồ chứa 1,5.

– *Phương pháp xác định.* Để xác định florua có thể sử dụng phương pháp dùng cực chọn lọc ion hay phương pháp so màu với thuốc thử ziriconializarin.

Xác định florua bằng phương pháp so màu ziriconializarin

– *Nguyên lí phương pháp :* Ion F^- tạo với ziriconi (IV) những ion phức rất bền, bền hơn phức màu của ziriconi (IV) với thuốc thử hữu cơ alizarin. Do đó khi cho florua tác dụng với dung dịch phức màu ziriconi alizarin thì một lượng alizarin tương đương với florua bị đẩy ra khỏi phức ; cường độ màu của nó bị thay đổi tỉ lệ thuận với nồng độ của florua.

Clo ngăn cản việc xác định. Loại trừ clo bằng cách thêm 0,05ml dung dịch natri asenit 0,5% đối với 0,1 mg clo. Những mẫu đục có màu mạnh cần được cất trước. Một số chất có hàm lượng lớn (Cl^- : 1800 mg/l, nhôm : 0,25 mg/l, PO_4^{3-} : 5mg/l ; SO_4^{2-} : 100 mg/l ; Fe^{3+} : 2 mg/l) cũng gây sai số lớn. Để khắc phục nên dùng phương pháp thêm : thêm các chất này vào dung dịch chuẩn khi lập đường chuẩn.

Độ kiềm của nước quá cao cũng ảnh hưởng đến phép xác định, cần trung hòa mẫu nước bằng HCl hay HNO_3 loãng.

Trình tự phân tích. Lấy vào lần lượt các ống trụ 0 ; 1,0 ; 2,0 ; 3,0 ; ... 30 ml dung dịch chuẩn sử dụng rồi thêm nước cất đến 100 ml. Các dung dịch này chứa 0 ; 0,05 ... 1,5 mg F^-. Lấy một ống trụ khác để đựng mẫu nước phân tích, thêm nước cất đến 100ml. Nhiệt độ của các dung dịch chuẩn và dung dịch phân tích phải như nhau. Thêm vào mỗi ống 5ml thuốc thử ziriconi–alirazin và trộn đều một cách cẩn thận. Sau 1 giờ đem so màu dung dịch mẫu với các dung dịch chuẩn tại bước sóng 520 – 550 nm hay kính lọc màu xanh lá cây. Dựa vào đường chuẩn để xác định hàm lượng F^- trong mẫu.

– *Hóa chất :*

Thuốc thử ziriconi alizarin, dung dịch axit : Hòa tan 0,30g $ZrOCl_2.8H_2O$ trong 50ml nước cất. Lấy 50ml nước cất khác hòa tan trong đó 0,07g natri alizari sunfonat (alizarin đỏ S) ; trộn hai dung dịch với nhau.

Lấy 100 ml HCl đặc tinh khiết phân tích trộn với 300 ml nước cất. Thêm 33,3 ml H_2SO_4 đặc vào 400 ml nước cất khác. Sau khi nguội, trộn hai dung dịch với nhau. Cho dung dịch axit và dung dịch ziriconializarin vào bình định mức 1 lít rồi dùng nước cất định mức đến 1 lít. Đựng dung dịch trong bình thủy tinh màu. Dung dịch bền trong 6 tháng.

Natri florua :

Dung dịch chuẩn gốc : Hòa tan 0,221g NaF tinh khiết phân tích đã được sấy khô ở 105°C trong nước cất và định mức đến 1 lít. Dung dịch này chứa 0,1 mg F^- trong 1 ml.

Dung dịch chuẩn sử dụng : Pha loãng 50ml dung dịch chuẩn gốc bằng nước cất rồi định mức đến 1 lít. Dung dịch này chứa 0,005 mg F^- trong 1 ml. Dung dịch chỉ pha trước khi dùng.

15. Xác định nitrat

Nitrat có trong nước thải của các nhà máy hóa chất, nhà máy sơn, nhà máy thủy tinh, vật liệu ảnh và trong các nước thải sinh hoạt.

Hàm lượng nitrat trong nước bề mặt nằm trong giới hạn 0,1 – 10 mg/l. Liều lượng nitrat tối thiểu gây độc đối với động vật có thân nhiệt ổn định là 117 mg/kg thể trọng. Khi hàm lượng nitrat trong các hồ nước lớn hơn 0,3 mg/l, tảo sẽ phát triển.

– *Nồng độ giới hạn cho phép :*

Nước uống : 2 – 10 mgNO_3^-/l tùy theo tiêu chuẩn từng nước

hoặc 9 – 50 mg NO_3^-/l tùy theo tiêu chuẩn từng nước.

Nước dùng cho chăn nuôi : 45mgNO_3^-/l

Nước thải : 45mgNO_3^-/l.

– *Phương pháp xác định.* Để xác định nitrat trong nước, người ta dùng phương pháp so màu với thuốc thử đisunfofenic. Thuốc thử tạo với nitrat thành hợp chất có màu vàng.

Khi hàm lượng lớn hơn 10 mg/l clorua cản trở việc xác định. Để loại trừ ảnh hưởng này có thể pha loãng dung dịch hoặc thêm Ag_2SO_4 vào để kết tủa Cl^- dưới dạng AgCl

– *Trình tự phân tích :* Cho 100 ml mẫu nước chứa không quá 5 mg NO_3^-, trung hòa đến pH = 7, chuyển vào chén sứ và cô cạn trên bếp cách thủy. Thêm 2ml dung dịch đisunfofenic vào phần khô trong chén và dùng đũa thủy tinh nhỏ, sạch hòa tan hoàn toàn, nếu cần, vừa khuấy vừa đun cách thủy. Thêm vào 20ml nước cất, 6 – 7ml NH_3 đặc hoặc 5 – 6 ml dung dịch KOH 12N. Nếu có xuất hiện kết tủa

hiđroxit của các kim loại thì lọc dung dịch qua phễu lọc thủy tinh xốp hoặc thêm vào dung dịch complexon III trong amoniac để hòa tan hết kết tủa. Chuyển dung dịch trong suốt vào bình định mức 50ml hay 100ml, định mức bằng nước cất đến vạch mức và đo mật độ quang ở bước sóng 410nm hoặc kính lọc màu tím, hiệu chỉnh mật độ quang theo thí nghiệm trắng. Xác định nitrat theo đường chuẩn.

– *Đường chuẩn :* Làm bay hơi đến khô trên bếp cách thủy 50ml dung dịch chuẩn nitrat. Thêm 2ml dung dịch axit đisunphophenic vào phần khô, khuấy nhẹ bằng đũa thủy tinh nhỏ đến khi tan hết, định mức bằng nước cất đến 100ml.

Chuẩn bị một loạt bình định mức 50ml lần lượt thêm vào mỗi bình 0 ; 0,1 ; 0,3 ; 0,5 ; 0,7 ; 1,0 ; 2,0 ; 5,0 ; 10,0 ; 15,0 ; 20,0 ; 30,0 ml dung dịch chuẩn có màu mới chuẩn bị như đã nói ở trên. Thêm vào 2ml dung dịch axit đisunphophenic và cùng một lượng NH_3 hoặc KOH như đã làm ở dung dịch mẫu. Định mức bằng nước đến vạch mức và đo mật độ quang của dung dịch. Các dung dịch trên có hàm lượng 0 ; 0,1 ; 0,3 ... 30,0 mg NO_3^-/l. Hiệu chỉnh mật độ quang theo thí nghiệm trắng và vẽ đường chuẩn.

– *Hóa chất*

Axit đisunphophenic : Hòa tan 25g phenol loại tinh khiết phân tích không màu trong 150ml H_2SO_4 đặc tinh khiết phân tích. Thêm 75ml H_2SO_4 bốc khói (ôleum) trộn đều. Cho vào bình cầu có ống sinh hàn hồi lưu và đun nóng 2 giờ trên nồi cách thủy sôi.

NH_4OH đặc.

KOH 12N.

Complexon III trong amoniac : Hòa tan 50g complexon III trong 20ml nước cất thu được chất nhão, hòa tan chất này trong 50ml NH_4OH đặc

Kali nitrat : Hòa tan 0,1631g KNO_3 tinh khiết phân tích đã sấy khô ở 105°C trong nước cất, thêm 1ml $CHCl_3$ rồi định mức bằng nước cất đến 1 lít. Thu được dung dịch chứa 0,100mgNO_3^- trong 1 lít.

PHẦN III

PHÂN TÍCH PHÂN BÓN

Nhiều phân bón, nhìn bên ngoài rất giống nhau : có thể là tinh thể, hay bột màu vô định hình, rời rạc hay bị dính kết (phụ thuộc vào độ ẩm) và không mùi.

Khi bảo quản hay vận chuyển có thể bị bẩn do chất khác làm thay đổi hình dạng bên ngoài và đôi khi cả thành phần của chúng. Do đó cần thiết phải biết cách nhận biết đơn giản các nhóm phân (phân đạm, phân kali, phân photpho) và các dạng phân (urê, amon sunfat, ...)

Trong một số trường hợp cần thiết phải kiểm tra hàm lượng (%) chất dinh dưỡng trong phân bằng các phương pháp định lượng chuẩn, đặc biệt hiện nay công nghiệp phân bón ngày càng phát triển và đa dạng.

Chương I

PHÂN TÍCH ĐỊNH TÍNH PHÂN KHOÁNG

1. Nhận biết phân khoáng

Phân đạm, phân kali hầu hết là dạng tinh thể (trừ xianamit canxi ở dạng bột), còn phân lân, vôi ở dạng bột.

– *Nhận biết các cation, anion của nhóm phân khoáng tinh thể :*

Lấy một phần phân hòa tan trong nước cất và xác định mức độ hòa tan của chúng.

Thêm một ít dung dịch kiềm (KOH hay NaOH) vào dung dịch phân bón. Nếu có mặt của nhóm NH_4^+ thì có mùi amoniac bay lên hay làm giấy quỳ đỏ ẩm thành xanh khi gặp hơi NH_3.

Thêm vào ống nghiệm chứa dung dịch phân bón vài giọt $BaCl_2$ 5%, khi có mặt trong phân gốc SO_4^{2-} thì kết tủa trắng $BaSO_4$ tạo thành. Sau 2 phản ứng trên cho thấy đó là phân sunfat–amon–$(NH_4)_2SO_4$.

Thêm vào dung dịch phân bón vài giọt $AgNO_3$ 1%, nếu có Cl^- thì tạo thành kết tủa trắng AgCl, còn khi có mặt photpho thì tạo thành kết tủa vàng Ag_3PO_4.

Thêm vào dung dịch phân thuốc thử Tananaep cobannitrit natri bạc $[Na_2AgCo(NO_2)_6]$, nếu có mặt kali thì tạo thành kết tủa cobantinitrit natri màu vàng.

– *Nhận biết phân urê :* Urê được sử dụng nhiều (tới 60%) vì loại phân này có tới 46% N. Urê có tinh thể nhỏ màu trắng, tan tốt trong nước, gần đây nhiều nước sản xuất urê ở dạng viên kèm theo việc hình thành điurê có tác dụng độc đối với cây (lượng điurê < 1%).

– *Nhận biết phân lân, vôi và xianamitcanxi*

Supe lân ở dạng bột hay viên, màu xám, do có axit sunfuric nên có mùi chua, ẩm và làm đỏ giấy quỳ xanh.

Phân lân nung chảy Văn Điển có dạng vô định hình màu xám xanh, xát trên tay lạo xạo ánh thủy tinh, phân khô rời rạc.

Prexipitat : phân dạng bột trắng, mịn, có phản ứng làm xanh giấy quỳ đỏ ẩm.

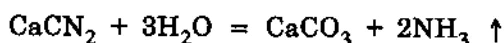
Apatit là phân lân thiên nhiên, được nghiền nhỏ thành bột mịn. Nếu có màu xám là quặng giàu apatit, còn có màu nâu đất là quặng nghèo.

Bột photphorit, dạng bột mịn, màu nâu đất sủi bọt với axit nhiều hơn apatit. Phân photphorit thường lẫn xác hữu cơ, nhẹ và kém đồng nhất hơn apatit.

Bột đá vôi : màu trắng xám, sủi bọt với axit, không có mùi và bỏ vào nước không có gì thay đổi.

Bột đôlômit : rất giống với bột đá vôi về màu sắc, sủi bọt với axit như bột đá vôi, nhưng bột đôlômit trắng hơn, nhẹ xốp hơn.

Phân xianamit canxi ít được sử dụng ở Việt Nam thuộc phân đạm, dạng bột màu xám xanh đậm hơn apatit (dễ lẫn với phân lân), thoảng có mùi NH_3. Để biết rõ cần lấy 5g trộn với 4ml nước để ngâm 2 – 3 phút rồi đun nhẹ, nếu có mùi NH_3 bay ra thì đúng là $CaCN_2$:



$$CaCN_2 + 3H_2O = CaCO_3 + 2NH_3 \uparrow$$

– *Nhận biết phân có chứa Ca.* Nhận biết cation này bằng cách cho dung dịch phân tác dụng với $(NH)_2C_2O_4$ tạo thành kết tủa trắng CaC_2O_4.

2. Xác định hàm lượng ẩm của phân khoáng dạng rắn (phương pháp sấy chân không)

Các loại phân khoáng khi bảo quản hấp thụ một lượng hơi nước nhất định, gọi là độ ẩm hiđroscopic. Khi ẩm nhiều, phân thường bị chảy nước hay dính. Vì vậy cần thiết phải phân tích hàm lượng ẩm của phân trước khi sử dụng, nhất là dùng thí nghiệm.

– *Nguyên lí phương pháp :* Hàm lượng nước hấp ẩm của phân bị mất khi sấy 2 giờ ở 50^oC trong điều kiện chân không. Phần nước mất chính là độ ẩm của phân.

- *Trình tự phân tích :*

Cân 2 gam phân cho vào cốc cân đã biết khối lượng.

Đặt cốc vào tủ sấy chân không, điều chỉnh nhiệt độ ở 50°C (± 1,5°C).

Sấy mẫu 2 giờ (± 10 phút).

Sau đó lấy mẫu để nguội trong bình hút ẩm.

Cân khối lượng cốc và mẫu.

- *Tính kết quả :* Hàm lượng ẩm (%) của phân khoáng dạng rắn được tính theo công thức sau :

$$M(\%) = \frac{(W_1 - W_2) \times 100}{n}$$

W_1 : khối lượng của cốc và mẫu trước khi sấy.

W_2 : khối lượng mẫu và cốc sau khi sấy.

n : khối lượng của mẫu lấy phân tích (g).

100 : tính ra %.

Ghi chú : Nếu không có tủ sấy chân không, thì sấy ở 100°C với tủ sấy bình thường.

3. Xác định độ axit tự do của phân khoáng (phương pháp chuẩn độ)

Một số phân khoáng có độ axit tự do, do bản chất của quá trình công nghệ sản xuất tạo ra. Biết độ axit tự do để góp phần sử dụng hợp lí phân khoáng bón cho từng vùng đất cụ thể, hạn chế tác động xấu đến môi trường.

- *Nguyên lí phương pháp :* Phân bón hòa tan trong nước và độ axit của nó được xác định bằng cách chuẩn độ với dung dịch NaOH tiêu chuẩn.

- *Trình tự phân tích :*

Hòa tan 2 gam phân sạch bằng 50ml nước cất lạnh trong bình 250ml (nếu bẩn thì phải lọc).

Chuẩn độ bằng NaOH 0,02N với chỉ thị màu metyl đỏ (sử dụng microburet khi chuẩn).

- *Tính kết quả.* Độ axit tự do (như H_2SO_4) bằng % khối lượng được tính như sau :

$$\text{Độ axit tự do} = \frac{4{,}904 \,.\, A \,.\, N}{W}$$

A : thể tích (ml) của NaOH 0,02N cần cho chuẩn độ.

N : nồng độ của NaOH (0,02N).

W : khối lượng (g) của mẫu lấy thí nghiệm.

- *Hóa chất :*

NaOH 0,02N.

Metyl đỏ.

Độ axit tự do của $(NH_4)_2SO_4$: Lấy 200ml dung dịch phân bón được chuẩn bị để phân tích nitơ cho vào bình tam giác 500ml, thêm vài giọt metyl đỏ, chuẩn bằng NaOH 0,1N đến khi chuyển từ màu hồng sang màu vàng nhạt.

Độ axit tự do của NH_4NO_3 :

Hòa tan 4g NH_4NO_3 bằng 100ml nước, thêm vào bình 3 - 4 giọt metyl đỏ (bình thứ 1), trong một bình khác cũng hòa tan 4g NH_4NO_3 (bình thứ 2) và thêm 3 - 4 giọt metyl đỏ.

Thêm 1 giọt H_2SO_4 0,1N vào một trong 2 bình, nếu dung dịch trong bình không thêm 1 giọt H_2SO_4 0,1N mà cũng nhuộm màu hồng như bình kia (có thêm H_2SO_4 0,1N) thì phân NH_4NO_3 có độ axit tự do.

Xác định độ axit tự do của phân NH_4NO_3 như sau : Cân 50g NH_4NO_3 hòa tan bằng nước cất trong bình định mức 100ml, thêm 3 - 4 giọt metyl đỏ, chuẩn bằng NaOH 0,1N đến khi chuyển từ màu hồng sang màu vàng.

Tính kết quả : Kết quả độ axit tự do của phân NH_4NO_3 được tính theo công thức sau :

$$X(\%) = \frac{a \cdot T \cdot 0{,}0063 \cdot 100 \cdot 100}{n(100' - y)}$$

n : khối lượng phân lấy phân tích (50g).

0,0063g HNO_3 tương đương 1ml NaOH 0,1N.

T : hiệu chỉnh độ chuẩn kiềm.

a : số ml kiềm tiêu tốn khi chuẩn độ.

100 : tính thành %.

$\frac{100}{100 - y}$: chuyển thành phân khô.

y : lượng nước (%) trong phân.

Chương 2

XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG CHẤT DINH DƯỠNG TRONG PHÂN KHOÁNG

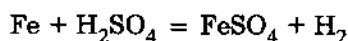
1. Xác định nitơ nitrat trong phân khoáng

- *Nguyên lí phương pháp :* Dựa trên nguyên tắc khử NO_3^- đến NH_3 và xác định lượng NH_3. Có nhiều phương pháp khử khác nhau phụ thuộc môi trường khử và chất khử.

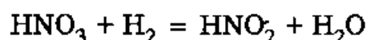
Phương pháp Devarda khử NO_3^-, NO_2^- đến NH_3 xảy ra trong môi trường kiềm với hỗn hợp khử Devarda - 50% Cu, 45% Al và 5% kẽm.

Phương pháp Arnda khử xảy ra trong môi trường kiềm yếu với hỗn hợp khử Cu và Mg.

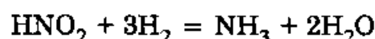
Phương pháp Ulsa khử trong môi trường axit với hiđro được tách ra khi phản ứng của bột Fe với H_2SO_4.



$$Fe + H_2SO_4 = FeSO_4 + H_2$$



$$HNO_3 + H_2 = HNO_2 + H_2O$$



$$HNO_2 + 3H_2 = NH_3 + 2H_2O$$

NH_3 tạo thành được cất và hấp thu bằng H_2SO_4 có nồng độ tiêu chuẩn hay H_3BO_3.

- *Trình tự phân tích :*

Cân 0,35 – 0,7 gam mẫu phân chứa NO_3^- cho vào bình cất 800 ml và thêm vào đó 200ml nước cất. Tiến hành cất theo nguyên tắc Kendan.

Dùng một lượng dư thừa axit tiêu chuẩn (H_2SO_4 0,5N) cho vào bình để hấp thu NH_3, sao cho lượng thừa ít nhất 2ml. Dung dịch hấp thu (H_2SO_4) phải ngập đầu mút của ống dẫn NH_3 tách ra, có thể thêm nước cất để ngập đầu ống.

Thêm vào bình cất chứa mẫu : nước; 5g bột kẽm, 1 – 2g $FeSO_4.7H_2O$ và 40ml NaOH 50%

Đun bình cất để cất NH_3 cho đến khi thể tích dung dịch hấp thu gần 100ml (thời gian cất 15 – 20 phút).

Chuẩn độ dung dịch hấp thu nhận được bằng NaOH 0,25N với 3 – 4 giọt chỉ thị metyl đỏ.

- *Tính kết quả :* Lượng nitơ ($N - NO_3^-$) (%) được xác định theo công thức sau :

$$N - NO_3 = \frac{(V_aN_a - V_KN_K) . 0,014 . p . 100}{n}$$

V_a : thể tích axit H_2SO_4 lấy để hấp thu NH_3 (ml).

N_a : nồng độ của H_2SO_4.

V_K : thể tích kiềm NaOH tiêu tốn để chuẩn độ.

N_K : nồng độ chuẩn của NaOH.

0,014 : đương lượng của nitơ.

n : khối lượng mẫu (g).

p : hệ số pha loãng.

- *Hóa chất :*

Bột Zn.

$FeSO_4$. $7H_2O$.

NaOH 50%.

Dung dịch axit H_2SO_4 tiêu chuẩn 0,5N.

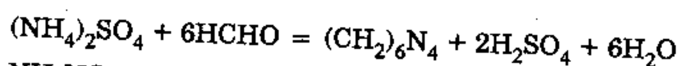
Metyl đỏ.

Dung dịch NaOH 0,25N.

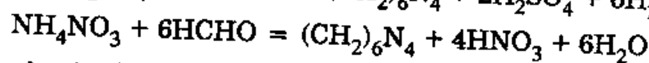
2. Xác định nitơ amoni trong phân khoáng (phương pháp foocmalin)

– *Nguyên lí phương pháp :* Phương pháp này coi như chuẩn để xác định nitơ trong phân chứa amoni ($(NH_4)_2SO_4$, NH_4Cl, NH_4NO_3, Ammophos). Phương pháp chỉ xác định nitơ NH_4^+, bởi vậy khi phân tích phân NH_4NO_3 thì kết quả được nhân gấp hai.

Phương pháp dựa trên cơ sở liên kết theo đương lượng của amoni với foocmalin (HCHO) tạo thành hợp chất trung tính hữu cơ hexametylentetramin – $C_6H_{12}N_4$ (như thuốc Urotropin). Đồng thời axit vô cơ tương ứng tạo thành với số lượng tương đương hàm lượng nitơ NH_4^+ trong mẫu phân tích.

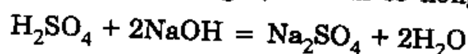


$$(NH_4)_2SO_4 + 6HCHO = (CH_2)_6N_4 + 2H_2SO_4 + 6H_2O$$

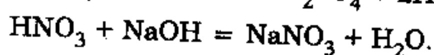


$$NH_4NO_3 + 6HCHO = (CH_2)_6N_4 + 4HNO_3 + 6H_2O$$

chuẩn độ axit tạo thành bằng dung dịch kiềm có nồng độ 0,1 – 0,5N



$$H_2SO_4 + 2NaOH = Na_2SO_4 + 2H_2O$$



$$HNO_3 + NaOH = NaNO_3 + H_2O.$$

– *Trình tự phân tích :*

Cân 10gam phân đã nghiền nhỏ cho vào cốc 150 – 200ml hòa tan bằng 50–100ml nước.

Lọc qua giấy lọc dày, dung dịch lọc chứa vào bình định mức 200ml, đưa thể tích đến vạch, lắc đều.

Lấy 25ml dịch lọc cho vào cốc 100 – 150ml, thêm 2 giọt chỉ thị metyl đỏ, nếu có màu hồng (môi trường axit) thì trung hòa bằng kiềm (NaOH 0,1N) đến màu xanh nhạt.

Lấy một cốc khác (100 – 150ml) rót vào đó 10ml foocmalin 40% (hay 20ml của dung dịch 20%) cũng thêm chỉ thị màu và trung hòa như mẫu phân tích.

Rót dung dịch foocmalin trung tính vào cốc đựng dung dịch phân tích. Phản ứng xảy ra nhanh, axit được tạo thành chuyển màu dung dịch từ màu xanh thành màu tím.

Thêm vào đó 2, 3 giọt phenolphtalein, chuẩn bằng NaOH 0,5N đến sự thay đổi màu lần thứ hai – từ màu xanh (sau màu tím) lại đến màu tím : Từ màu tím đến màu xanh ở pH = 6,2 theo metyl đỏ và từ màu xanh sang màu tím ở pH = 8,2 theo phenolphtalein. Có thể thay metyl đỏ bằng metyl da cam (chuyển từ màu hồng sang màu vàng ở pH = 4,4).

– *Tính kết quả :* Hàm lượng nitơ (%) được tính theo công thức sau :

$$N - NH_4^+ = \frac{V \cdot N \cdot 0{,}014 \cdot p \cdot 100}{n}$$

V : số ml kiềm tốn khi chuẩn độ.

N : nồng độ của kiềm.

0,014 : đương lượng của nitơ.

n : khối lượng mẫu lấy phân tích.

p : hệ số pha loãng $\left(\frac{200}{100}\right)$.

100 : tính ra %.

– *Hóa chất :*

Metyl đỏ 0,01g hòa tan trong 30ml rượu, thêm nước đến 50ml và bảo quản trong lọ thủy tinh màu.

Metyl da cam 0,05g hòa tan trong 100ml nước cất. Phenolphtalein 0,25g hòa tan trong 25ml rượu etilic.

Dung dịch kiềm 0,1N.

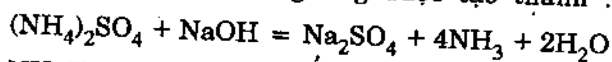
Dung dịch kiềm 0,5N (KOH hay NaOH).

HCHO 40% hay 20%.

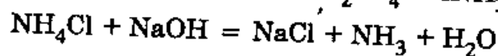
* *Xác định NH_4^+ trong phân đạm (phương pháp đun sôi để hở)*

Phương pháp đun sôi để hở sử dụng để xác định nitơ amoni trong phân bón nhanh và đơn giản hơn phương pháp foocmalin.

– *Nguyên tắc của phương pháp.* Khi đun dung dịch phân chứa nitơ amoni với kiềm thì amoniac sẽ bay hơi và muối tương ứng được tạo thành :



$$(NH_4)_2SO_4 + NaOH = Na_2SO_4 + 4NH_3 + 2H_2O$$



$$NH_4Cl + NaOH = NaCl + NH_3 + H_2O$$

Lượng kiềm thừa được chuẩn độ bằng axit sẽ suy ra được tiêu tốn để đẩy NH_3.

– *Trình tự phân tích.*

Lấy 30 – 40 g phân dạng amoni cho vào cối sứ tán nhỏ.

Cân 10 g phân đã tán nhỏ bằng cân kĩ thuật cho vào cốc 150 – 200 ml hòa tan bằng nước cất.

Định mức bằng nước cất tới thể tích 200 ml. Có thể lọc qua giấy lọc thông thường nếu dung dịch phân bẩn. Lắc đều dung dịch.

Lấy 25 ml dung dịch cho vào bình tam giác 100 ml, thêm vào đó 50 ml dung dịch kiềm 0,5N từ burét.

Lắc đều dung dịch, đậy bằng một phễu nhỏ và đun sôi nhẹ trên bếp điện, hay bếp gas cho đến khi chỉ còn 1/3 thể tích so với ban đầu.

Để nguội dung dịch đến nhiệt độ phòng, tráng phễu và thành bình cho sạch bằng nước cất.

Chuẩn độ lượng thừa kiềm bằng dung dịch H_2SO_4 0,5N với 2 – 3 giọt chỉ thị màu phenolphtalein đến khi chuyển từ màu tím hồng sang màu xanh nhạt.

– *Tính kết quả.* Lượng nitơ trong phân (%) được tính theo công thức sau :

$$N = \frac{(aN_1 - bN_2) \cdot 0{,}014 \cdot p \cdot 100}{n}$$

a : số lượng kiềm cho vào dung dịch chứa nitơ phân (ml)

N_1 : nồng độ của kiềm (0,5 N)

b : số lượng axit tiêu tốn khi chuẩn độ (ml)

N_2 : nồng độ của kiềm (0,5 N)

p : hệ số pha loãng

n : khối lượng phân lấy phân tích

100 : để tính kết quả ra %.

– *Hóa chất :*

+ KOH hay NaOH 0,5N

+ H_2SO_4 0,5N

+ Dung dịch phenolphtalein.

3. Xác định photphat hòa tan trong nước của phân photphat

Có một số phương pháp xác định photpho trong phân bón phụ thuộc vào tính hòa tan khác nhau của hợp chất photphat và điều đó liên quan tới việc đánh giá chất lượng của phân và cường độ xâm nhập vào cây của photpho.

Hợp chất photpho trong phân bón chia thành 3 nhóm :

1 – Axit photphoric (tính ra P_2O_5) hòa tan trong axit khoáng đặc hay là hỗn hợp của chúng, không dễ tiêu cho cây trồng.

2 – Axit photphoric hữu hiệu hòa tan trong axit limonic hay trong dung dịch amoni limonat, dễ tiêu đối với cây trồng.

3 – Axit photphoric hòa tan trong nước – dễ tiêu nhất cho tất cả các cây trồng.

Khi biết số lượng photpho dễ tiêu của phân có thể xác định đúng liều lượng phân photpho bón vào đất ở các điều kiện khác nhau để thu nhận năng suất cao. Người ta thống nhất tiêu chuẩn P_2O_5 hòa tan trong nước của phân bón là cần phải không ít hơn 75% lượng tổng số và đến 95% lượng dễ tiêu.

Phương pháp trọng lượng Lorenzơ và thể tích Scheffer là phương pháp phổ biến xác định photpho hòa tan trong nước.

– *Nguyên lí phương pháp.* Axit photphoric được kết tủa bằng dung dịch molipdatamon trong môi trường axit ở dạng hợp chất phức.



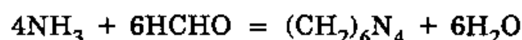
$$(NH_4)_3PO_4 .\ 12\ MoO_3 .\ 2HNO_3 .\ H_2O$$

Môi trường axit mạnh cần thiết để giữ trong dung dịch hàng loạt các yếu tố như : H_2SO_4 đặc ngăn cản sự kết tủa oxit silic, axit HNO_3 ngăn cản sự lắng kết tủa axit molipđic. Môi trường axit được tạo thành bằng cách thêm vào dung dịch thí nghiệm hỗn hợp H_2SO_4 + HNO_3. Phương pháp có độ chính xác cao nhưng đòi hỏi tuân thủ tiến trình phân tích vì muối phức có thể thay đổi thành phần của nó khi thay đổi điều kiện kết tủa, khi sấy khô kết tủa. Phản ứng hòa tan kết tủa photpho molipđat xảy ra như sau :



$$(NH_4)_3PO_4.12\,MoO_3.2HNO_3.H_2O + 56NaOH = 24Na_2MoO_4 + NaNO_3 + 2Na_2HPO_4 + 6NH_3 + 34H_2O$$

Amoniac được tạo thành cản trở sự xác định tiếp theo, bởi vậy cần loại trừ bằng cách liên kết với foocmalin thành chất hữu cơ trung tính (hexametilentetramin)



$$4NH_3 + 6HCHO = (CH_2)_6N_4 + 6H_2O$$

– *Trình tự phân tích :*

Cân 5 gam phân photpho (supephotphat) cho vào bát sứ, thêm vào đó 15 – 20ml nước cất khuấy bằng đũa thủy tinh.

Dùng nước cất chuyển mẫu trong bát sứ sang bình định mức 200ml qua phễu không cần giấy lọc, tráng sạch bát cho vào bình định mức 200ml, lắc đều, đậy nút bình.

Lọc qua giấy lọc thường

Lấy 10ml dịch lọc cho vào cốc, thêm vào 20ml nước cất lạnh (trong trường hợp phân tích supephotphat đơn giản còn khi phân tích supephotphat kép thì lấy 5ml dung dịch lọc và thêm 25ml nước).

Dùng ống đong thêm vào 15ml hỗn hợp axit H_2SO_4 và HNO_3 đặc, đun đến sôi.

Nhấc cốc khỏi bếp, thêm vào giữa dung dịch 30ml dịch amoni sunfomolipđat. Kết tủa màu vàng rơi lắng, lắc tròn cẩn thận cốc và để yên 15 – 18 giờ.

Phân tích tiếp tục được tiến hành phụ thuộc vào phương pháp chọn : Lorenzơ hay Scheffer.

Phương pháp thể tích Scheffer

Kết tủa cũng được lọc như trên.

Rửa kết tủa vài lần bằng dung dịch Na_2SO_4 1% đến phản ứng trung tính.

Phễu chứa kết tủa đặt lên cốc hay bình tam giác để thu dịch hòa tan kết tủa.

Từ buret thêm từng phần nhỏ dung dịch NaOH 0,5N để hòa tan kết tủa.

Thêm 2ml dung dịch foocmalin 40% tương ứng 25ml kiềm tiêu tốn để hòa tan. Thêm 2 giọt phenolphtalein.

Nếu dung dịch không màu thì thêm kiềm cho đến khi có màu hồng nhạt.

Lượng thừa NaOH chuẩn bằng HCl 0,1N đến khi không màu.

– *Tính kết quả :* Hàm lượng P_2O_5 (%) được tính theo công thức sau :

$$P_2O_5 = \frac{(V_1N_1 - V_2N_2) \cdot 0,002539 \cdot p \cdot 100}{n}$$

V_1 : số ml kiềm tốn để hòa tan kết tủa, N_1 là nồng độ của nó.

V_2 : số ml HCl tiêu tốn khi chuẩn, N_2 là nồng độ HCl 0,002539 : hệ số để chuyển số lượng muối phức thành P_2O_5.

n : khối lượng màu lấy phân tích.

p : hệ số pha loãng.

100 : tính ra %.

– *Hóa chất :*

Hỗn hợp $H_2SO_4 + HNO_3$: 30ml H_2SO_4 (d = 1,84) rót cẩn thận vào 1 lít HNO_3 (d = 1,20) (424 ml HNO_3 d = 1,41 chuyển vào bình định mức 1 lít đã có 500ml nước) lắc đều, định mức tới vạch.

Dung dịch sunfonmolipđat amon. Cho 100g $(NH_4)_2MgO_4$ cho vào ống đong 2 lít, thêm 1 lít HNO_3 đặc (d = 1,36), lắc cẩn thận đến hòa tan muối ; 300g $(NH_4)MoO_4$ hòa tan trong 1 lít nước nóng, để nguội đến nhiệt độ phòng, lắc đều để hòa tan muối. Rót từng lượng nhỏ dung dịch $(NH_4)MoO_4$ vào dung dịch $(NH_4)_2MgO_4$ liên tục lắc đều. Để yên 48 giờ. Lọc qua giấy lọc dày. Bảo quản dung dịch trong lọ màu, đặt nơi tối.

Dung dịch NH_4NO_3 2% : 20g muối hòa tan trong một ít nước cất và chuyển dần vào bình định mức 1 lít, thêm 3 - 4 giọt HNO_3 đặc, định mức tới 1 lít.

Dung dịch $Na_2SO_4.10\ H_2O$ 1%.

Dung dịch kiềm KOH và NaOH 0,5N.

HCl 0,1N.

Dung dịch foocmalin HCHO 40%.

Phenolphtalein.

4. Xác định kali trong phân kali

Phân kali được sử dụng như KCl, muối kali 30 - 40%, sinvinit, cacnalit, poligalit, K_2SO_4. Tất cả chúng hòa tan trong nước, trong dung dịch đất một phần khi được hấp phụ do keo đất.

Để xác định liều lượng bón chính xác vào đất, cần biết hàm lượng của chất tác dụng (K hay K_2O) trong phân. Hiện nay có một số phương pháp khác nhau để xác định kali như phương pháp trọng lượng, thể tích, phương pháp quang kế.

Phương pháp nhanh và đơn giản nhất là phương pháp quang kế. Nguyên lí của phương pháp xem phần phân tích đất và cây.

- Trình tự phân tích :

Lấy một ít phân kali nghiền nhỏ trong cối sứ, cân 0,5g trên cân phân tích cho vào cốc 100 - 150ml.

Thêm 50 - 100ml nước cất lạnh, khuấy bằng đũa thủy tinh đến hòa tan hoàn toàn.

Lọc qua giấy lọc nhanh, dung dịch lọc chứa bằng bình định mức 200ml, đưa nước cất đến vạch 200ml, lắc đều (dung dịch 1).

Lấy 2ml dung dịch cho vào bình định mức 200ml pha loãng đến vạch (dung dịch 2).

Lấy 10ml dung dịch 2 cho vào bình định mức 50ml, định mức tới vạch, lắc đều.

Xác định kali trên quang kế ngọn lửa hay quang phổ kế (xem phần phân tích đất).

Hàm lượng kali trong phân được tính ra K hay K_2O bằng cách sử dụng đồ thị chuẩn được xây dựng theo thang dung dịch mẫu.

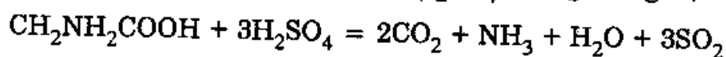
Chương 3

XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG CHẤT DINH DƯỠNG TRONG PHÂN HỮU CƠ, VÔI, THAN BÙN

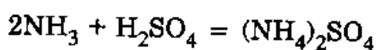
1. Xác định nitơ tổng số trong phân chuồng

Phân chuồng là phân hữu cơ được sử dụng phổ biến, có ý nghĩa lớn trong sản xuất nông nghiệp. Hàm lượng các chất dinh dưỡng (N, P, K...) trong phân chuồng rất khác nhau phụ thuộc vào nhiều yếu tố (thu nhận và bảo quản phân). Bởi vậy để đánh giá đúng chất lượng của phân chuồng cần phải phân tích thành phần của nó.

– *Nguyên lí phương pháp :* Nitơ hữu cơ của phân chuồng (cũng như nitơ của thực vật và của đất) được oxi hóa bằng H_2SO_4 đặc và sự có mặt của chất xúc tác ($CuSO_4$, selen) chuyển thành nitơ ở dạng $(NH_4)_2SO_4$ trong dung dịch.

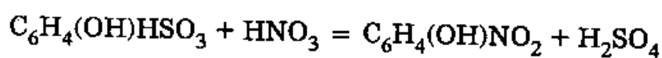


$$CH_2NH_2COOH + 3H_2SO_4 = 2CO_2 + NH_3 + H_2O + 3SO_2$$

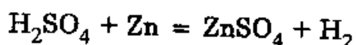


$$2NH_3 + H_2SO_4 = (NH_4)_2SO_4$$

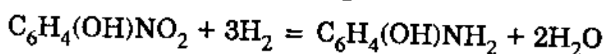
Phần nhỏ nitơ dạng NO_3^- trong phân chuồng cũng được chuyển thành NH_3 khi có mặt của phenol.



$$C_6H_4(OH)HSO_3 + HNO_3 = C_6H_4(OH)NO_2 + H_2SO_4$$



$$H_2SO_4 + Zn = ZnSO_4 + H_2$$



$$C_6H_4(OH)NO_2 + 3H_2 = C_6H_4(OH)NH_2 + 2H_2O$$

Trong quá trình tro hóa tiếp thì nitơ nhóm amin chuyển thành amoniac liên kết với H_2SO_4 thành $(NH_4)_2SO_4$.

– *Trình tự phân tích :*

Trước hết chọn mẫu trung bình của phân chuồng từ khối lượng lớn của phân. Từ mẫu trung bình trộn đều lấy mẫu phân tích ở phòng thí nghiệm.

Cân 10g mẫu từ mẫu phân tích cho vào bình Kenđan 250ml, sao cho phân không dính vào thành bình.

Rót vào 30ml sunfophenol (nếu không cần phân tích NO_3^- thì không dùng phenol), lắc nhẹ đều.

Thêm vào 1–2g bột Zn, đun nhẹ trên ngọn lửa và sau đó đun sôi.

Khi dịch lỏng trong bình có ánh đỏ, lấy bình ra khỏi bếp, thêm 0,1g Se bột hay 0,59g $CuSO_4$.

Tiếp tục đun sôi cho đến khi dung dịch trong bình trắng hoàn toàn, đun thêm nửa giờ.

Lấy bình ra để nguội, thêm một ít nước cất và chuyển toàn bộ dung dịch vào bình cất của dụng cụ Kenđan để cất NH_3. Thể tích dung dịch trong bình cất khoảng 300ml, thêm 2 – 3 giọt phenolphtalein.

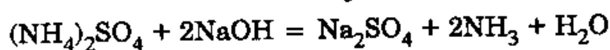
Sau đó rót cẩn thận 120ml NaOH 30% vào bình cất. Đồng thời lấy 75ml H_2SO_4 0,1N có 2 – 3 giọt metyl da cam để hấp thụ NH_3 thoát ra khi cất.

Đun sôi để cất NH_3 cho đến khi thể tích trong bình cất chỉ còn dưới 2/3, hạ thấp bình hấp thụ để lấy những giọt cuối cùng chảy ra từ ống sinh hàn.

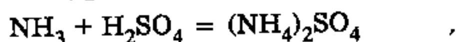
Để biết quá trình cất đã kết thúc hay chưa thì tốt nhất lấy vài giọt cuối cùng chảy ra từ ống sinh hàn thêm vào 1 – 2 giọt thuốc thử Nestle. Nếu có màu vàng thì còn NH_3, việc cất NH_3 chưa kết thúc.

Sau khi cất kết thúc, chuẩn độ lượng thừa H_2SO_4 còn lại sau khi hấp thụ bằng dung dịch kiềm có nồng độ tiêu chuẩn cho tới khi chuyển từ màu đỏ sang hơi vàng (chỉ thị metyl).

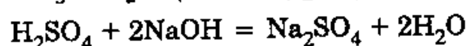
Phản ứng xảy ra khi cất, liên kết NH_3 và chuẩn độ như sau :



$$(NH_4)_2SO_4 + 2NaOH = Na_2SO_4 + 2NH_3 + H_2O$$



$$NH_3 + H_2SO_4 = (NH_4)_2SO_4$$



$$H_2SO_4 + 2NaOH = Na_2SO_4 + 2H_2O$$

– *Tính kết quả :*

$$N\ (\%) = \frac{(V_1N_1 - V_2N_2) \cdot 0{,}014 \cdot 100}{n}$$

V_1 : số ml H_2SO_4 0,10N lấy để hấp phụ.

N_1 : nồng độ của H_2SO_4.

V_2 : số ml NaOH tiêu tốn khi chuẩn.

N_2 : nồng độ của NaOH.

n : khối lượng mẫu lấy phân tích.

Để chuyển kết quả ra % chất khô thì nhân với $\frac{100}{100 - y}$.

(y : % nước trong phân). Trong phân ngựa % chất khô khoảng 0,58%, phân cừu : 0,83%, phân lợn : 0,45%

– *Hóa chất :*

Axit sunfophenic : Hòa tan 40g phenol tinh khiết (C_6H_5OH) trong axit H_2SO_4 (d = 1,84) đưa thể tích đến 1lít.

Bột Zn, bột selen hay $CuSO_4.5H_2O$.

Phenolphtalein 1% pha trong rượu.

NaOH 30%.

H_2SO_4 0,1N.

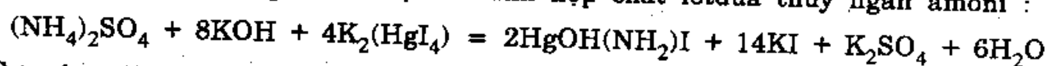
Metyl da cam.

Thuốc thử Nestle.

Dung dịch chuẩn NaOH 0,1N.

2. Xác định nitơ (NH_4^+) trong phân chuồng

– *Nguyên lí phương pháp :* Nitơ NH_4^+ của phân chuồng được tách bằng HCl 0,5N tác dụng với thuốc thử Nestle tạo thành muối phức hợp màu vàng. Cường độ màu của dung dịch tỉ lệ thuận với nồng độ của amoni và có thể đo bằng cách so màu. Thuốc thử Nestle là dung dịch kiềm của muối kali iotđua thủy ngân tạo với muối amoni trong môi trường kiềm mạnh thành hợp chất iotđua thủy ngân amoni :



$$(NH_4)_2SO_4 + 8KOH + 4K_2(HgI_4) = 2HgOH(NH_2)I + 14KI + K_2SO_4 + 6H_2O$$

Sự có mặt trong dung dịch phân tích ion Ca^{2+}, Mg^{2+} và một số cation khác ảnh hưởng xấu đến phép xác định, vì chúng cũng tác dụng với Nestle. Loại trừ bằng cách thêm vào dung dịch thuốc thử Seinhet. Phản ứng với thuốc thử Nestle rất nhạy (nồng độ $NH_4^+ \leq 0,15$ mg/100ml).

Đồng thời chuẩn bị thang màu tiêu chuẩn từ $(NH_4)_2SO_4$.

– *Trình tự phân tích :*

Cân 25g phân chuồng từ mẫu phân tích cho vào bình 1 lít, thêm vào 500ml HCl 0,5N lắc 30 phút.

Lọc qua giấy lọc dày, phần đầu đục có thể bỏ hay chuyển ngược lại lên giấy lọc.

Lấy 10ml dung dịch lọc trong cho vào bình định mức dung tích 250ml thêm nước cất đến vạch.

Lấy 25ml dung dịch lọc cho vào bình định mức 100ml, thêm 4ml dung dịch Seinhet 25% để loại ảnh hưởng của Ca, Mg, thêm nước cất đến khoảng 80 – 90ml, lắc đều và thêm 4ml thuốc thử Nestle. Định mức tới vạch và lắc đều. Nếu như dung dịch có màu da cam hay màu đỏ thì phân tích phải tiến hành lại với lượng dung dịch ít hơn.

So màu dung dịch màu thí nghiệm và thang màu tiêu chuẩn sau khi thêm thuốc thử Nestle 15 phút (thời gian so màu không chậm hơn 1 giờ).

Chuẩn bị thang màu tiêu chuẩn : Lấy 6 bình định mức 100ml lần lượt thêm vào 0, 2, 4, 6, 8 và 10ml dung dịch tiêu chuẩn có nồng độ 0,005 mg NH_4^+ / 1ml và tiến hành các bước tiếp theo như khi phân tích mẫu.

– *Tính kết quả.* Hàm lượng nitơ dạng NH_4^+ (%) được tính theo công thức sau :

$$N(\%) = \frac{a \cdot b \cdot 100}{n \cdot c \cdot 1000}$$

a : lượng nitơ tìm theo đồ thị

b : thể tích tổng số của dung dịch

c : thể tích dung dịch lấy để hiện màu

n : khối lượng mẫu khô không khí

1000 : để chuyển mg thành g

– *Hóa chất :*

Thuốc thử Nestle : Hòa tan 25,0g KI trong 30ml nước và thêm vào đó 35g HgI_2, khuấy bằng đũa thủy tinh cho đến hòa tan hoàn toàn. Thêm vào 870ml dung dịch KOH, lắc đều, để yên và gạn lấy phần trong, đựng vào lọ thủy tinh màu để dùng.

Seinhet 25% : Nếu muối này bị bẩn do muối amon, thì thêm vào đó 5ml thuốc thử Nestle, lọc bỏ phần kết tủa nâu đỏ.

Dung dịch tiêu chuẩn : Cân 0,7405g NH_4Cl tinh khiết hòa tan trong 1 lít, lấy 20ml dung dịch này pha thành 1 lít. Trong 1ml dung dịch tiêu chuẩn này chứa 0,005 mg NH_4^+, sử dụng để xây dựng thang màu tiêu chuẩn.

3. Xác định photpho tổng số trong phân chuồng

Thông thường, hệ số sử dụng photpho từ phân chuồng của cây trồng hầu như bằng hai lần lớn hơn so với phân photpho khoáng. Cho nên phân chuồng là nguồn phân có giá trị về dinh dưỡng photpho đối với cây trồng. Phụ thuộc vào nguồn gốc phân, phương pháp bảo quản, chế biến mà hàm lượng photpho trong phân có thể thay đổi, vì vậy rất cần thiết xác định hàm lượng P_2O_5 của phân trước khi sử dụng.

– *Nguyên lí phương pháp.* Mẫu phân chuồng (tươi hay khô không khí) được tro hóa bằng phương pháp tro hóa khô hay ướt. Photpho trong dung dịch tro được xác định bằng phương pháp so màu xanh molipđen, hay bằng phương pháp thể tích, trọng lượng.

Tro hóa ướt bằng hỗn hợp $H_2SO_4 + HNO_3$ xảy ra ở nhiệt độ tránh được việc mất photpho do bay hơi, đồng thời thời gian tro hóa ít hơn.

– *Trình tự phân tích.* Mẫu phân chuồng đã nghiền nhỏ, trộn đều, từ đó chọn mẫu để phân tích.

Cân 2g phân chuồng khô (hay 5g phân chuồng tươi) cho vào bình Kenđan 500ml.

Cho vào bình 20 – 25 ml hỗn hợp $H_2SO_4 + HNO_3$, đun trên bếp điện.

Trong khi tro hóa, theo định kì lắc bình và bổ sung 1 – 1,5ml HNO_3 đặc, vì HNO_3 bay hơi.

Mỗi lần cho axit HNO_3 phải để bình nguội. Khi không có khí màu nâu thoát ra thì cần thiết phải thêm HNO_3.

Quá trình tro hóa kết thúc khi dung dịch trong bình có màu trắng.

Sau khi tro hóa xong, để nguội bình rồi thêm vào bình 100ml nước đun đến sôi để loại trừ bớt HNO_3.

Lọc để loại trừ phần kết tủa trong dung dịch như axit silic, thạch cao, cát, sét, rửa phần cặn trên giấy lọc bằng nước cất nóng. Dịch lọc và nước rửa đựng vào bình định mức 200ml, định mức tới vạch, lắc đều. Dung dịch sẽ chia hai phần, một phần để xác định kali.

Lấy 20ml dung dịch trên cho vào bình định mức 200ml định mức bằng nước tới vạch. Dung dịch đã pha loãng 10 lần này dùng để xác định so màu photpho.

Phụ thuộc vào hàm lượng photpho trong phân chuồng mà ta có thể lấy 5 - 15ml dung dịch pha loãng sau khi tro hóa để hiện màu xanh molipđen trong bình định mức 100ml

– *Tính kết quả.* Hàm lượng P_2O_5 trong phân chuồng được tính bằng % như sau :

$$P_2O_5(\%) = \frac{a \cdot b \cdot k \cdot 100}{n \cdot l}$$

a : số ml dung dịch mẫu lấy cho vào bình dung tích 100ml để so với dung dịch thí nghiệm.

b : hàm lượng P_2O_5 trong 1ml dung dịch mẫu (mg).

100 : để biểu diễn ra %.

n : khối lượng phân chuồng thô (mg) tương đương với thể tích dung dịch pha loãng sau khi tro hóa lấy để so màu trong bình 100ml.

– *Hóa chất :*

Các thuốc thử như khi xác định P_2O_5 trong cây.

Hỗn hợp H_2SO_4 và HNO_3 (tỉ lệ 1 : 1).

HNO_3 (d = 1,41).

4. Xác định kali tổng số trong phân chuồng

Hầu như tất cả kali trong phân chuồng hòa tan trong nước, dễ tiêu đối với cây trồng không thua kali của phân khoáng. Xác định kali của phân chuồng để có cơ sở đánh giá chất lượng phân và sử dụng nó hợp lí.

– *Nguyên lí phương pháp :* Mẫu phân chuồng sau khi tro hóa ướt để xác định photpho, một nửa dung dịch để xác định kali.

Kali trong dung dịch được kết tủa ở dạng muối phức natri, kali cobantinitrit, sau đó phá hủy muối này bằng $KMnO_4$ và tính lượng $KMnO_4$ tiêu tốn trong phản ứng.

1ml $KMnO_4$ 0,1N tương đương 0,711mg K hay 0,856 mg K_2O từ đó tính được % kali trong phân chuồng.

– *Trình tự phân tích :*

Sau khi tro hóa xác định photpho, dung dịch tro thu nhận được trong bình 200ml (100ml để xác định photpho, còn 100ml để xác định kali).

Lấy 100ml dung dịch cho vào bát sứ, bay hơi đến khô trên bình cách thủy, sau đó nung để loại trừ NH_3. Nung tiến hành cho tới khi ngừng thoát ra khói trắng, không được để cháy.

Phần khô trong bát sứ sau khi nung hòa tan bằng 3 - 4ml CH_3COOH 10%.

Lọc dung dịch qua giấy lọc không tro, vào bát sứ nhỏ, rửa phần trên giấy lọc bằng nước cất nóng.

Tiếp tục bay hơi dung dịch trong bát sứ đến thể tích 10ml.

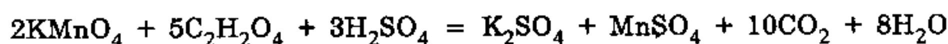
Thêm từng giọt dung dịch cobantinitrit (10ml) để kết tủa kali. Bay hơi ở nhiệt độ 80 - 90°C đến trạng thái nhão, trộn đều bằng đũa thủy tinh.

Để hỗn hợp nguội, hòa tan cẩn thận bằng 3ml CH_3COOH 10%, thêm 10ml nước cất, lọc qua lọc thủy tinh No4.

Rửa kết tủa bằng Na_2SO_4 (trong dung dịch này thì kết tủa $K_2NaCo(NO_2)_6$ khó hòa tan) cho đến khi dịch rửa chảy ra không màu.

Kết tủa đã rửa sạch cho vào cốc chứa 250ml nước và 50ml $KMnO_4$ 0,1N, đun trên nồi cách thủy, khuấy bằng đũa thủy tinh 2 - 3 phút cho hòa tan hoàn toàn kết tủa. Màu của dung dịch là màu tím (thừa $KMnO_4$), nếu không màu thì thêm 3 - 4 ml $KMnO_4$ 0,1N.

Sau khi hòa tan kết tủa xong (mất màu vàng của muối) thì thêm vào dung dịch nóng một lượng xác định dung dịch $H_2C_2O_4$ 0,1N cho đến khi dung dịch hoàn toàn không màu. Kết tủa đen peroxitmangan (xuất hiện khi hòa tan muối phức) bị biến mất và dung dịch trở nên không màu :



$$2KMnO_4 + 5C_2H_2O_4 + 3H_2SO_4 = K_2SO_4 + MnSO_4 + 10CO_2 + 8H_2O$$

Lượng thừa $C_2H_2O_4$ chuẩn độ bằng $KMnO_4$ đến khi dung dịch có màu hồng. Từ kết quả chuẩn độ suy ra lượng $KMnO_4$ tiêu tốn để phá hủy kết tủa.

- *Tính kết quả.* Hàm lượng K_2O trong phân được tính bằng % khối lượng khô tuyệt đối :

$$K_2O(\%) = \frac{[(a+b) \cdot T_1 - cT_2] \cdot 100 \cdot 100}{n(100-y)} \cdot 0,000856$$

a : số ml $KMnO_4$ 0,1N cho vào cốc phá kết tủa muối phức.

b : số ml $KMnO_4$ tiêu tốn khi chuẩn độ ngược.

T_1 : hệ số hiệu chỉnh độ chuẩn của $KMnO_4$.

c : số ml $H_2C_2O_4$ tiêu tốn khi chuẩn độ lượng $KMnO_4$ thừa.

T_2 : hệ số hiệu chỉnh độ chuẩn của $H_2C_2O_4$.

0,000856 : số g K_2O tương đương 1ml $KMnO_4$ 0,1N.

$\frac{100}{100-y}$: để chuyển kết quả ra phân khô.

n : khối lượng phân tương ứng thể tích lấy phân tích (g).

y : % độ ẩm của phân.

Phân tích kali bằng phương pháp này mất thời gian, kết quả phân tích phụ thuộc nhiều vào người phân tích, hiện nay phương pháp này ít sử dụng mà phổ biến nhất là phương pháp quang kế ngọn lửa.

- *Hóa chất :*

Các hóa chất cần cho tro hóa ướt mẫu.

CH_3COOH 10%.

Natricobantinitrat : 25g $Co(NO_3)_2.6H_2O$ hòa tan trong 50ml nước và thêm 12,5ml CH_3COOH (a).

120g $NaNO_2$ hòa tan trong 180 ml nước cất và đun cẩn thận (b).

Để sau 1 ngày, trộn 1 phần dung dịch đầu (a) với 3 phần của dung dịch sau (b). Hỗn hợp để ngoài không khí để loại oxit nitơ, để yên 5 giờ. Sau đó lọc, dung dịch lọc chứa vào lọ thủy tinh màu bảo quản ở chỗ lạnh. Chuẩn bị trước khi phân tích 4 – 5 ngày.

$Na_2SO_4.10H_2O$ 2,5%.

$KMnO_4$ 0,1N.

H_2SO_4 (1/7) : một phần H_2SO_4 và 7 phần nước.

$H_2C_2O_4$ 0,1N.

5. Xác định Ca, Mg trong phân vôi bằng phương pháp trilon B

Ở các phần trên đã trình bày phương pháp thể tích – chuẩn độ trilon B xác định Ca, Mg trong một dung dịch. Trong phần này trình bày phương pháp trilon B xác định phân vôi.

Ở phương pháp này chỉ thị được sử dụng là metalphtalein, phân tích có thể tiến hành trong sự có mặt một số lượng nhỏ ion ảnh hưởng như Fe, Al, Mg, P.

– *Trình tự phân tích* (Tổng số Ca + Mg)

Cân 1g phân hòa tan trong 10ml HCl (tỉ lệ 1 : 1), đun dung dịch sau khi nguội định mức đến 250ml rồi lọc.

Lấy 25ml dung dịch lọc cho vào bình định mức 100ml, thêm vào một lượng dư dung dịch trilon B 0,1N.

Đưa thể tích của dung dịch đến vạch mức bằng dung dịch NaOH 20%. Các ion ảnh hưởng ở dưới dạng kết tủa, Al ở dạng aluminat.

Sau 20 phút, lọc, lấy 25ml dung dịch rót vào cuvét của quang kế đặc biệt, trung hòa bằng HCl loãng theo metyl đỏ, thêm amoniac đến pH = 11, thêm 2 – 3 giọt dung dịch amoniac của metalphtalein.

Chuẩn độ bằng dung dịch $CaCl_2$ 0,1N lượng thừa của trilon B đến khi xuất hiện màu đỏ. Có thể nhận thấy sự thay đổi màu trong cốc phân tích bình thường.

Ở Mĩ, phương pháp complexon được cải tiến một ít :

Một khối lượng phân vôi hòa tan bằng HCl, thêm NH_4OH vào dung dịch để pH = 9,5, thêm hỗn hợp NH_4Cl và NH_4OH để đệm hóa dung dịch.

Chuẩn độ bằng trilon B với chỉ thị màu cromogen đen đến khi chuyển từ màu đỏ sang màu xanh.

Sự tiêu tốn trilon B trong chuẩn độ chỉ ra hàm lượng tổng số của Ca và Mg trong phân.

– *Tính kết quả* (xem phần phân tích thực vật)

Xác định canxi :

Thêm vào dung dịch chứa canxi hỗn hợp KOH và KCl để đưa pH của dung dịch đến 12.

Thêm vào dung dịch chỉ thị màu murexit và thêm một lượng thừa trilon B vào dung dịch.

Chuẩn độ lượng thừa trilon B bằng dung dịch $CaCl_2$ 0,1N cho tới khi chuyển từ màu tím hoa cà sang màu đỏ hồng.

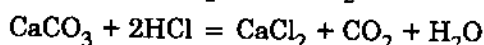
Theo hiệu số tìm được số lượng trilon B tiêu tốn để liên kết canxi trong dung dịch phân bón.

– *Tính kết quả* (xem phần phân tích thực vật).

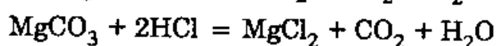
6. Xác định khả năng trung hòa tổng số của phân vôi bằng chuẩn độ

Mục đích chính của sử dụng vôi trong nông nghiệp là trung hòa độ chua của đất chua. Khả năng trung hòa của phân vôi phụ thuộc chính vào lượng $CaCO_3$ và $MgCO_3$.

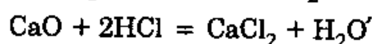
– *Nguyên lí phương pháp.* Vôi tác dụng với HCl tiêu chuẩn khi có nhiệt độ thì tạo thành hợp chất trung tính ($CaCl_2$ và $MgCl_2$) :



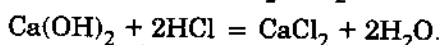
$$CaCO_3 + 2HCl = CaCl_2 + CO_2 + H_2O$$



$$MgCO_3 + 2HCl = MgCl_2 + CO_2 + H_2O$$



$$CaO + 2HCl = CaCl_2 + H_2O$$



$$Ca(OH)_2 + 2HCl = CaCl_2 + 2H_2O.$$

Lượng HCl dư thừa được chuẩn độ ngược bằng kiềm. Theo số lượng HCl, liên kết với kiềm sẽ tính được hàm lượng tổng số của oxit, hiđroxit, cacbonat.

– *Trình tự phân tích :*

Từ mẫu trung bình lấy một phần phân vôi nghiền nhỏ.

Cân 5g nguyên liệu cho vào bình định mức 500ml, làm ướt mẫu bằng 10 – 15ml nước.

Thêm cẩn thận vào bình 250ml HCl 1,0N.

Đặt bình trên bếp cách thủy đun 30 phút lắc thường xuyên.

Để nguội dung dịch, thêm nước cất đến vạch, lắc đều và lọc vào bình khác.

Lấy 100ml dung dịch lọc cho vào bình tam giác 200ml thêm 2 giọt phenolphtalein, chuẩn lượng HCl còn lại bằng NaOH 0,5N đến màu hồng nhạt.

Khi phân tích tiếp có thể gặp 2 trường hợp (vôi sạch và bẩn) như sau :

1) Thêm chính xác 2ml HCl 1,0N vào dung dịch chuẩn độ ngược ban đầu, đun dung dịch trên bình cách thủy 30 phút (để loại CO_2 khỏi ảnh hưởng kết quả). Dung dịch đang nóng chuẩn độ bằng NaOH 0,5N đến màu hồng nhạt không mất trong 1 phút. Khi tính kết quả phân tích cần cộng tổng số lượng kiềm tiêu tốn hai lần chuẩn.

2) Lọc dung dịch đã chuẩn ban đầu, rửa phần cặn trên giấy lọc bằng nước cất nóng. Dịch lọc và nước rửa thu vào bình định mức 200ml ; thêm vào bình 2ml HCl 1,0N, đưa thể tích trong bình đến vạch 200ml bằng nước, đậy bình, lắc đều. Lấy 100ml dung dịch cho vào bình hay cốc 300ml, đặt lên bình cách thủy đun 30 phút. Khi dung dịch đang nóng chuẩn bằng NaOH 0,5N đến màu hồng nhạt bền trong 1 phút. Số lượng kiềm tiêu tốn chuẩn độ lần thứ hai tăng gấp đôi (vì lấy chỉ một nửa

dung dịch sau khi loại Setquioxit). Khi tính kết quả phải cộng tổng số kiềm tiêu tốn 2 lần chuẩn.

– *Tính kết quả.* Người ta biết rằng 1ml HCl 0,5N liên kết 0,014gCaO. Tổng số oxit, hiđroxit, cacbonat (tính ra % CaO trên chất khô) được tính theo công thức :

$$x = \frac{[104 . T_1 - (a + b) . T_2] . 0,014 . 100 . 100}{n(100 - y)}$$

x : số lượng CaO (%).

a : số lượng ml NaOH 0,5N tiêu tốn chuẩn độ ban đầu.

b : số lượng ml NaOH 0,5N tiêu tốn chuẩn độ lần thứ hai.

n : khối lượng vôi tương ứng với thể tích lấy chuẩn độ.

(thể tích dịch chiết $\frac{5 . 100}{500} = 1 g$)

104 : số ml HCl 0,5N lấy phân tích : để phân tích lấy 100ml dung dịch, lần đầu thêm 2ml HCl 1,0N (tương đương 4ml HCl 0,5N). Do vậy tổng số là 104ml.
y : % độ ẩm.

T_1 và T_2 là hiệu chỉnh độ chuẩn của axit và kiềm.

Nếu như nguyên liệu vôi được phân tích không chứa tạp chất hiđroxit Fe, Al, thì trong trường hợp này cần đun sôi 100ml dịch lọc 5 phút, thêm 2 giọt phenolphtalein, chuẩn độ nóng bằng NaOH 0,5N đến màu hồng bền trong 1 phút. Kết quả được tính như sau :

$$CaO(\%) = \frac{(100 . T_1 - aT_2) . 0,014 . 100 . 100}{n(100 - y)}$$

Liều lượng vôi tính bằng tấn $CaCO_3$/ha (tức là chuyển % CaO thành $CaCO_3$) bằng cách lấy kết quả trên nhân với hệ số 1,785. Thực tế tính toán cần bón 4 tấn $CaCO_3$/ha và trong nguyên liệu chỉ có 58,6% thì liều lượng thực cần bón là :

$$\frac{100 \times 4}{58,6} = 6,82 \text{ tấn}$$

– *Hóa chất :*

HCl 1,0N ; phenolphtalein ; NaOH 0,5N.

7. Phân tích than bùn (để làm phân bón)

Than bùn giàu nitơ, nghèo lân và rất nghèo kali, thường chua. Hiện nay than bùn được sử dụng rộng rãi trong nông nghiệp như một chất độn để ủ với các loại phân khác (phân lân, phân xanh, phân hữu cơ phân vi sinh). Để đánh giá chất lượng của than bùn cần thiết phải phân tích một số chỉ tiêu.

– Xác định độ ẩm : Cân 10g phân than bùn ở dạng thô cho vào chén cân đã biết khối lượng, sấy mẫu ở nhiệt độ 60 – 80°C, ở nhiệt độ này trong khoảng 4 – 6 giờ thì phần lớn nước bay hơi. Sau đó sấy ở nhiệt độ 100 – 105°C đến khi khối lượng không đổi. Khi xác định độ ẩm hiđroscopic trong than bùn khô không khí thì cân 3 – 5g trên cân phân tích và sấy như trên.

– Xác định nitơ NH_4^+, hàm lượng N, P và kali tổng số : tiến hành tro hóa mẫu và phân tích như khi phân tích phân chuồng. Than bùn sâu giàu nitơ và các nguyên tố tro hơn so với than bùn nông. Để xác định NH_4^+ cân 10 – 15g, xác định P_2O_5 và K_2O cân 2 – 5g tro hóa như phân tích tổng số.

– Xác định độ chua của than bùn (độ chua hoạt tính và tiềm tàng) giống như phân tích đất.

Xác định pH trong nước chiết và KCl. Cân 4g than bùn khô không khí (qua rây 1mm) cho vào bình tam giác 500ml, thêm vào 100ml nước cất hay là 100ml KCl 1N, thêm vài giọt toluen đậy nắp bình và lắc trên máy 30 phút hay lắc tay 1 – 2 giờ (hay để qua ngày). Có thể xác định pH bằng phương pháp so màu hay bằng phương pháp điện thế (pH metre).

Xác định độ chua trao đổi và Al linh động theo phương pháp Xôcôlôp.

Để xác định ion H^+ gây ra độ chua thủy phân có thể dùng canxi axetat 1,0N để tách (pH = 8,2). Cân 1,5g mẫu than bùn khô không khí (qua rây 1mm), thêm vào 450ml canxi axetat hay natri axetat. Đậy bình,, lắc 1 giờ trên máy. Lọc qua giấy lọc dày. Lấy 100 ml dung dịch lọc trong, chuẩn bằng NaOH 0,1N khi có mặt 1 – 2 giọt phenolphtalein đến khi có màu hồng nhạt bền trong 1 phút. Đồng thời chuẩn 100ml dung dịch axetat như mẫu đối chứng. Tính kết quả như phần phân tích đất.

Xác định hàm lượng Fe trong tro than bùn. Cần xác định hàm lượng Fe, Al trong than bùn để sử dụng hợp lí nó, đặc biệt là chuẩn bị hỗn hợp giữa than bùn và phân khoáng. Khi có Fe, Al với hàm lượng lớn thì không thể hỗn hợp được với supephotphat. Hàm lượng Al linh động trong than bùn được xác định theo phương pháp Xôcôlôp.

Hàm lượng Fe trong tro than bùn được xác định bằng cách lấy một khối lượng nhất định tro hóa ở nhiệt độ không cao hơn 525°C đến khối lượng không đổi, tro được rây qua rây lụa. Cân 1g mẫu đã qua rây cho vào bình thể tích 300ml. Thấm ướt tro trong bình bằng 10ml nước cất, sau đó thêm từng giọt HCl 10% đến khi ngừng sủi bọt. Sau đó thêm vào bình 40ml HCl (d = 1,19) và 1 – 2ml HNO_3 (d = 1,40), đặt bình trên bếp điện cách lưới amian đun đến sôi và sôi gần 30 phút, chuyển hỗn hợp trong bình sang bát sứ và bay hơi trên nồi cách thủy đến khô. Để bát sứ nguội và lại cho vài ml HCl đặc và lại bay hơi đến khô. Sau đó sấy trong tủ sấy ở nhiệt độ không cao hơn 120°C. Thêm vài ml HCl vào phần kết tủa còn lại trong bát, sau đó bay hơi trên nồi cách thủy và sấy khô.

Khi bát sứ nguội đến nhiệt độ phòng thì thêm 5 – 6 ml HCl đặc để hòa tan kết tủa, sau 10 phút thêm vào đó 50ml nước cất nóng và đun trên nồi cách thủy. Lọc qua giấy lọc nhanh kết tủa axit silic nếu có, quá trình lọc xảy ra ở trạng thái nóng. Dung dịch lọc thu vào bình định mức 250ml (bình 1). Nếu như kết tủa dạng bông trong bát sứ có màu đỏ thì còn sắt, cần thêm vài giọt HCl đặc để hòa tan hoàn toàn nó. Kết tủa trên giấy lọc rửa bằng dung dịch HCl 1% đến khi không có phản ứng với Fe (thêm vào 1 ml dịch lọc và giọt KCNS).

Định mức dung dịch trong bình đến vạch (250ml) đậy nút bình và lắc đều. Fe trong dung dịch có thể xác định bằng phương pháp so màu.

Để xác định Fe bằng so màu phải pha loãng dung dịch 1 ra 100 lần (dung dịch 2). Lấy 10 – 20 ml dung dịch 2 (phụ thuộc vào hàm lượng Fe) cho vào bình định mức 100ml, trung hòa dung dịch bằng NaOH 10% (xác định số lượng kiềm cần để trung hòa bằng 1 bình chứa mẫu phân tích riêng cũng 10 – 20ml và với chỉ thị metyl đỏ). Thêm vào dung dịch phân tích trung tính gần 80ml nước cất, 5ml axit nitric và KCNS. Lắc đều dung dịch trong bình và định mức bằng nước cất đến vạch.

Đồng thời chuẩn bị thang màu tiêu chuẩn, gồm 3 bình định mức 100ml chứa 5, 10 và 20ml dung dịch Fe, amoni sunphat, thêm 80ml nước cất lắc đều, thêm 5ml HNO_3 và KCNS, định mức đến 100ml, lắc đều. Sau 15 phút tiến hành so màu.

– *Tính kết quả.* Hàm lượng Fe (%) trong tro được tính như sau :

$$x = \frac{a \cdot 0,01 \cdot K \cdot 100}{n \cdot l}$$

a : số ml dung dịch mẫu lấy vào bình 100ml để chuẩn bị thang tiêu chuẩn trùng với dung dịch thí nghiệm.

0,01mg Fe trong 1ml dung dịch mẫu.

K : số đọc ở quang kế tương đương thang dung dịch mẫu (ml).

100 : tính ra % ; n : khối lượng tro (mg) tương ứng thể tích dung dịch thí nghiệm lấy để so màu.

l : số đọc ở quang kế theo thang dung dịch thí nghiệm.

– *Hóa chất :*

HNO_3 : 30ml HNO_3 đặc pha loãng thành 100ml bằng nước cất.

KCNS : 10g hòa tan bằng nước cất và đưa thể tích đến 100ml.

Dung dịch mẫu : Cân 0,3502g $FeSO_4$ $(NH_4)_2SO_4.6H_2O$ hòa tan trong nước đã axit hóa bằng axit H_2SO_4 và oxi hóa Fe^{2+} thành Fe^{3+} (bằng cách thêm $KMnO_4$ đến khi dung dịch có màu hồng) và pha loãng bằng nước đến thể tích 500ml. Đây là dung dịch chuẩn gốc. Để cấu tạo thang màu tiêu chuẩn pha loãng dung dịch trên thành 10 lần (0,01mg Fe/1ml hay 0,0143mg Fe_2O_3 / 1ml).

HCl đặc.
HNO_3 đặc.
NaOH 10%.
H_2SO_4 (1 : 1).
$KMnO_4$ 0,1N.
HCl 1%.

Xác định photpho trong tro than bùn

Lấy 10 – 20ml dung dịch ở bình số 2 (dung dịch 2) trung hòa bằng kiềm 10%.

Phân tích tiếp tục như phần phân tích cây.

Xác định kali trong tro than bùn :

Lấy 50ml dung dịch 1 (ở bình số 1).

Phân tích tiếp tục như phân tích kali trong cây.

Chương 4

KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG PHÂN BÓN VI SINH VẬT

1. Phương pháp kiểm tra chất lượng một số loại phân bón vi sinh vật

Phân bón vi sinh vật là một trong những loại phân bón được đánh giá cao trong phát triển nông nghiệp bền vững và bảo vệ môi trường đất. Do sự ưu việt của nó mà hiện nay nhiều nước đang phát triển trong đó có Việt Nam đã bắt đầu sử dụng nhằm thay thế một phần phân bón hóa học. Vậy thực chất phân vi sinh vật là gì ? Phân bón vi sinh vật là một loại phân bón có chứa các chủng vi sinh vật sống ở dạng tiềm sinh đã qua tuyển chọn, có hoạt tính sinh học cao, góp phần tạo nên độ phì nhiêu của đất, cung cấp chất dinh dưỡng dưới dạng dễ tiêu (N, P, K...) và các hợp chất sinh học khác để tăng năng suất cây trồng, chất lượng sản phẩm thông qua các hoạt động của chúng. Căn cứ vào chủng vi sinh vật chứa trong phân bón vi sinh vật mà có các tên gọi khác nhau như : phân đạm vi sinh (chứa vi sinh vật cố định đạm), phân lân vi sinh (chứa các vi sinh vật phân giải các hợp chất photpho khó tan), phân hữu cơ vi sinh (chứa một số chủng vi sinh vật chuyển hóa đạm, chuyển hóa lân, xenlulozơ...)...

Để phấn đấu phát triển một nền nông nghiệp sạch và bền vững, trong những năm gần đây ở Việt Nam việc sản xuất và chế biến phân bón vi sinh vật đã được mở rộng và trở thành một sản phẩm hàng hóa có thị trường tiêu thụ khắp cả nước. Do đặc thù của loại phân này là vi sinh vật sống tiềm sinh nên không thể đánh giá chất lượng của phân bón bằng các phương pháp thông thường như các sản phẩm phân bón khác trên thị trường. Vì vậy, cần thiết phải có phương pháp để kiểm tra chất lượng các loại phân bón vi sinh vật. Những phương pháp giới thiệu dưới đây là những phương pháp phổ biến hiện nay mà các nước trên thế giới và khu vực đang sử dụng.

1.1. Một số yêu cầu chung cho kiểm tra

1.1.1. Lấy mẫu

Mẫu lấy để kiểm tra phải là mẫu đại diện cho từng lô sản phẩm, có thể lấy mẫu theo các cách sau : lấy mẫu trung bình từ nhiều lô sản phẩm trộn lại hoặc lấy ngẫu nhiên ở một số bao (gói) trong lô sản phẩm. Chia số mẫu làm hai phần bằng nhau, một phần đem kiểm tra chất lượng ở tại thời điểm lấy mẫu, phần còn lại được bảo quản trong điều kiện bình thường để kiểm tra chất lượng khi hết hạn sử dụng. Do sản phẩm phân bón vi sinh vật thường được đóng bao hoặc gói rất cẩn thận để bảo quản sử dụng nên việc lấy mẫu kiểm tra phụ thuộc vào khối lượng của mỗi lô hàng và theo biểu mẫu :

SỐ LƯỢNG BAO (TÚI) CẦN LẤY ĐỂ KIỂM TRA

Số (bao) túi của lô hàng	Số lượng mẫu cần lấy (bao) túi
< 100 100 – 10.000 > 10.000	7 11 15 19

Dụng cụ để lấy mẫu và chứa, bảo quản mẫu phải vô trùng :

Mẫu để kiểm tra cần phải ghi rõ :

- Tên gọi sản phẩm
- Chủng vi sinh vật đã sử dụng
- Tiêu chuẩn kĩ thuật đã đăng kí với Nhà nước
- Ngày sản xuất
- Địa điểm lấy mẫu
- Ngày giờ lấy mẫu
- Tên cơ sở sản xuất (xí nghiệp, nhà máy, cơ quan, doanh nghiệp)
- Người lấy mẫu

Trong quá trình lấy cũng như vận chuyển mẫu phải tuyệt đối tránh sự lây nhiễm từ bên ngoài và phải bảo quản mẫu được nguyên trạng thái ban đầu cho tới khi phân tích, không được bổ sung bất cứ tác nhân nào vào mẫu kiểm tra như : các chất diệt vi khuẩn, nấm, ...). Tránh để trực tiếp dưới ánh nắng Mặt Trời. Trong trường hợp chưa phân tích được ngay thì phải bảo quản mẫu ở nhiệt độ 5°C và thời gian bảo quản mẫu không quá 72 giờ. Trước khi phân tích, mẫu kiểm tra phải được để trong tủ ấm ở nhiệt độ nuôi cấy vi sinh vật (28 – 30°C) trong 12 giờ hoặc hoạt hóa trong môi trường cấy có bổ sung 2% rỉ đường. Việc làm trên giúp vi sinh vật sẽ chuyển từ trạng thái tiềm sinh sang trạng thái hoạt động.

1.1.2. Chuẩn bị dịch kiểm tra

Nước được dùng để pha loãng là nước cất vô trùng hoặc nước đã khử ion được phân vào các bình tam giác và ống nghiệm theo sơ đồ sau :

Cân 10 g mẫu phân bón vi sinh vật đã hoạt hóa cho vào bình tam giác 250 ml có chứa 90 ml nước cất vô trùng hoặc có thể cân 5 g cho vào bình tam giác có chứa 45 ml nước cất vô trùng... Đậy kín bình bằng nút bông rồi tiến hành lắc trên máy lắc ở tốc độ 200 vòng/phút trong 15 phút, sau đó pha loãng dịch cấy để kiểm tra.

1.1.3. Cấy mẫu

Mẫu cấy để kiểm tra được tiến hành theo phương pháp pha loãng – phương pháp Koch và cấy dịch huyền phù ở các độ pha loãng khác nhau vào từng môi trường cụ thể và tiến hành nuôi vi sinh vật trong tủ ấm ở nhiệt độ phù hợp với điều kiện quy định của từng loại vi sinh vật.

1.1.4. Đọc và tính kết quả

Sau thời gian nuôi cấy trong tủ ấm, mang mẫu ra xác định sự phát triển của vi sinh vật thông qua việc đếm các khuẩn lạc phát triển trên môi trường đặc thù. Sau đó tính toán kết quả theo công thức :

$$B = \frac{A \times DF}{W}$$

B : số lượng vi sinh vật (CFU) có trong 1g phân bón

A : số khuẩn lạc trung bình / hộp petri

DF : độ pha loãng của dịch huyền phù cấy vào hộp petri

W : lượng mẫu khô có trong 1 g phân bón vi sinh vật ban đầu đem phân tích.

1.1.5. Xác định hàm lượng các chất dinh dưỡng

Song song với việc lấy mẫu kiểm tra vi sinh vật có trong phân bón cần lấy mẫu phân bón vi sinh vật để phân tích các chỉ tiêu như :

- Xác định hàm lượng nitơ (N%)
- Xác định hàm lượng photpho hữu hiệu (P_2O_5%)
- Xác định hàm lượng kali (K_2O%)
- Xác định hàm lượng chất hữu cơ (C%)
- Xác định hàm lượng một số nguyên tố vi lượng
- Xác định độ ẩm

Từ các kết quả kiểm tra số lượng vi sinh vật và các chất dinh dưỡng có trong phân bón vi sinh vật, so sánh với bảng yêu cầu về chất lượng kĩ thuật của từng loại phân bón (tiêu chuẩn Việt Nam) mà có những kết luận về chất lượng phân bón góp phần chỉ ra cho các nhà quản lí chất lượng, để kịp thời khuyến khích nhà sản xuất tiếp tục sản xuất hay cần phải đổi mới công nghệ sản phẩm có chất lượng cao, cũng như đề xuất việc phát triển hay đình chỉ sản xuất nếu như chất lượng phân bón quá kém.

2. Phương pháp kiểm tra một số loại phân bón vi sinh vật

2.1. Kiểm tra phân bón vi sinh vật cố định nitơ (phân đạm vi sinh)

Là loại phân bón vi sinh vật có chứa các chủng vi sinh vật sống đã được tuyển chọn có khả năng cố định nitơ. Để phù hợp với từng loại cây trồng, phân đạm vi sinh được phân ra : phân vi sinh vật cố định nitơ hội sinh và tự do (sử dụng cho lúa, ngô...), phân vi khuẩn cố định nitơ cộng sinh dùng cho cây họ Đậu.

– Kiểm tra phân vi sinh vật cố định nitơ tự do và hội sinh (đối với *Azotobcter và Azospirillum*) bằng môi trường Ashby.

– Kiểm tra phân vi sinh vật cố định nitơ cộng sinh : môi trường YMA (Yeast – manitol – agar).

* *Môi trường glucozơ – pepton đối với vi sinh vật tạp (g/l)* :

Glucozơ	5,0
Pepton	10,0
Agar	20,0
Bromocresol 1% trong cồn	10,0ml

Sau khi môi trường được khử trùng ở 1,5 atm (atmosphe) trong 30 phút, tiến hành cấy vi sinh vật theo trình tự trên. Sau khi hoàn thành thủ tục cấy, gói kín các hộp petri bằng giấy vô trùng rồi đem nuôi trong tủ ấm ở nhiệt độ 28 - 30°C trong 48 giờ. Sau thời gian nuôi cấy tiến hành đếm khuẩn lạc mọc trên đĩa thạch. Vi sinh vật cố định nitơ là những khuẩn lạc không bắt màu công gô hoặc chỉ bắt màu hồng nhạt trên môi trường YMA và mọc rất rõ trên môi trường Ashby. Các khuẩn lạc mọc trên môi trường glucozơ - pepton là vi sinh vật tạp nhiễm.

Đối với phân vi sinh vật cố định nitơ cộng sinh với các cây họ Đậu như : lạc, đậu tương, đậu đen, đậu xanh... có thể dùng phương pháp kiểm tra gây nhiễm trực tiếp lên cây. Qua một thời gian tính toán khả năng cộng sinh thông qua việc tạo thành nốt sần.

Phương pháp này được tiến hành như sau : Sử dụng hạt sirato (Macroptilium atropurpureus) cho đậu xanh, đậu đen, lạc và hạt đậu tương dại (glicine ussurieusis) cho đậu tương. Hạt sirato khử trùng trong H_2SO_4 nồng độ cao trong 4 phút, sau đó rửa nhanh 3 - 4 lần bằng nước cất vô trùng. Hạt cây chỉ thị khác khử trùng bằng cồn 90° trong 2 phút hoặc dung dịch HgCl 1/1000 trong 3 - 4 phút sau đó rửa sạch bằng nước cất vô trùng nhiều lần. Ủ hạt khoảng 24 - 36 giờ và làm ẩm bằng nước cất vô trùng cho tới khi hạt nảy mầm rồi cấy trên môi trường thạch Jensen trong ống nghiệm. Mỗi độ pha loãng lặp lại 3 lần, đậy nút bông và đặt vào nhà lưới ở nhiệt độ 28°C. Sau 10 ngày kiểm tra sự tạo thành nốt sần và xác định số lượng tế bào vi khuẩn cố định nitơ cộng sinh có trong phân bón bằng cách tra bảng MPN.

Môi trường trồng cây chỉ thị : môi trường Jensen (g/l) :

$CaHPO_4$	1,0
K_2HPO_4	0,2
$MgSO_4.7H_2O$	0,2
NaCl	0,2
$FeCl_3$	0,1
Agar	10,0
pH	6,5 - 7,0
Dung dịch vi lượng	1,0ml

Thành phần của dung dịch vi lượng (g/l) :

Bo	0,05
Mn	0,05
Zn	0,005
Mo	0,005
Cu	0,002

Số lượng khuẩn lạc trung bình của vi khuẩn cố định nitơ được tính là trung bình cộng của số khuẩn lạc của các hộp petri cấy từ cùng độ pha loãng mà có chứa 50 - 300 khuẩn lạc mới được sử dụng để tính toán.

2.2. Kiểm tra phân bón vi sinh vật phân giải hợp chất photpho khó tan (phân lân vi sinh)

Phân lân vi sinh một loại phân bón vi sinh vật chứa một hay nhiều chủng vi sinh vật sống đã qua tuyển chọn có hoạt tính sinh học cao để phân giải các hợp chất

photpho khó tan thành các dạng dễ tiêu cung cấp chất dinh dưỡng photpho cho đất và cây trồng.

Thủ tục chuẩn bị kiểm tra thực hiện như trên và môi trường kiểm tra là môi trường Picovskaja.

Sau một thời gian nuôi cấy ở 28 - 30°C trong 7 - 14 ngày quan sát và đọc kết quả. Khả năng phân giải hợp chất photpho khó tan của vi sinh vật được xác định bằng việc hình thành vòng phân giải trong suốt bao quanh khuẩn lạc trên môi trường Picovskaja (môi trường chứa nguồn photpho duy nhất $Ca_3(PO_4)_2$. Vì thế chỉ đếm các khuẩn lạc hình vòng phân giải bao quanh còn các khuẩn lạc không có vòng phân giải bao quanh đó là vi sinh vật tạp.

Số lượng khuẩn lạc trung bình của vi khuẩn phân giải hợp chất photpho khó tan là trung bình cộng số khuẩn lạc của các hộp petri có 50 - 300 khuẩn lạc. Mật độ vi sinh vật phân giải lân có trong một đơn vị kiểm tra được tính theo công thức đã nêu ở trên.

Cùng với việc kiểm tra vi sinh vật phải lấy mẫu phân bón vi sinh vật phân tích các chỉ tiêu dinh dưỡng theo các phương pháp thông thường ở mục các phương pháp phân tích phân bón.

2.3. Kiểm tra phân bón vi sinh vật phân giải xenlulozơ

Đây là loại phân bón vi sinh vật có chứa một hay nhiều chủng vi sinh vật sống đã được tuyển chọn có hoạt tính sinh học cao góp phần phân giải xenlulozơ cung cấp dinh dưỡng cho đất và cây trồng.

Thủ tục chuẩn bị kiểm tra thực hiện như ở trên và môi trường kiểm tra là môi trường Hutchinson.

Đọc kết quả : Các khuẩn lạc mọc trên giấy được tính là vi sinh vật phân giải xenlulozơ. Số lượng khuẩn lạc trung bình của vi sinh vật phân giải xenlulozơ được tính là trung bình cộng số khuẩn lạc của các hộp cấy từ cùng độ pha loãng, trong đó chỉ tính các hộp có chứa 50 - 300 khuẩn lạc.

Mật độ vi sinh vật được tính theo công thức đã nêu ở phần trên và được đếm trên máy đếm khuẩn lạc.

2.4. Kiểm tra phân hữu cơ vi sinh

Phân hữu cơ vi sinh là loại phân được sản xuất từ các nguồn nguyên liệu hữu cơ không đồng nhất (khác nhau) có chứa một hay nhiều chủng vi sinh vật sống có chức năng khác nhau đã được tuyển chọn nhằm cung cấp các chất dinh dưỡng cho đất và cây trồng góp phần nâng cao năng suất và chất lượng nông sản.

- Môi trường kiểm tra.

Phân hữu cơ vi sinh có chứa nhiều chủng vi sinh vật sống với chức năng khác nhau, do vậy việc kiểm tra loại phân này hiện nay vẫn còn nhiều ý kiến khác nhau. Tuy nhiên, để kiểm tra loại phân hữu cơ vi sinh, ta vẫn tiến hành các thủ tục chuẩn bị mẫu kiểm tra như những loại phân vi sinh khác. Môi trường sử dụng để kiểm tra phụ thuộc vào sự có mặt của các chủng vi sinh vật có trong phân bón hữu cơ vi sinh mà nhà sản xuất đã đăng kí tiêu chuẩn chất lượng đối với Nhà nước. Trên

cơ sở đó chúng ta mới quyết định sử dụng môi trường để kiểm tra. Ví dụ : một loại phân hữu cơ vi sinh có chứa vi sinh vật cố định nitơ và vi sinh vật phân giải xenlulozơ tiêu chuẩn chất lượng đã được đăng kí nhưng trong thực tiễn kém hiệu quả, người tiêu dùng không hài lòng và đề nghị cơ quan chức năng kiểm tra chất lượng. Tiến hành như sau : lấy mẫu, sau đó chọn môi trường kiểm tra bao gồm : môi trường kiểm tra vi sinh vật cố định nitơ tự do và cộng sinh ; môi trường Hutchinson cho vi sinh vật phân giải xenlulozơ. Kết quả kiểm tra cho phép đánh giá được loại phân hữu cơ vi sinh kiểm tra có hay không có các chủng vi sinh vật hoặc mật độ đạt hay không đạt theo tiêu chuẩn đăng kí chất lượng của doanh nghiệp hay quy định của Nhà nước.

Tất cả các loại phân bón vi sinh vật, phân hữu cơ vi sinh đều phải được đảm bảo không gây ảnh hưởng xấu đến sức khỏe con người, thực vật và động vật, đến chất lượng nông sản và môi trường sinh thái.

2.5. Kiểm tra hiệu quả các loại phân bón vi sinh vật đối với cây trồng và môi trường đất đai

Việc kiểm tra số lượng vi sinh vật và các chất dinh dưỡng chứa trong phân bón vi sinh vật được thực hiện trong phòng thí nghiệm, phần kiểm tra này chưa thể đánh giá được ảnh hưởng của nó đến cây trồng và đất đai do đó cần phải được tiếp tục kiểm tra hiệu lực thật của mỗi loại phân bón vi sinh vật đối với việc phát triển của cây trồng, tạo nên năng suất và chất lượng của sản phẩm. Cũng như ảnh hưởng của nó đến các hoạt động sinh học ở trong đất : kìm hãm hay kích thích sự phát triển của vi sinh vật đất, động vật đất là những chỉ tiêu thể hiện sự thay đổi môi trường sinh thái đất. Vì vậy, đối với bất cứ loại phân vi sinh vật nào sau khi kiểm tra trong phòng thí nghiệm phải tiến hành khảo nghiệm trên đồng ruộng đối với một số cây trồng trên các vùng sinh thái khác nhau theo đúng quy trình về khảo nghiệm phân bón do Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn đã quy định (Bảng 4 ; 5).

BẢNG 4. TIÊU CHUẨN MẬT ĐỘ VI SINH VẬT SỐNG TRONG MỘT SỐ LOẠI PHÂN BÓN

Tên chỉ tiêu	Mật độ vi sinh vật CFU*/g (ml) phân bón			
	Chất mang thanh trùng		Chất mang không thanh trùng	
	Khi xuất xưởng	Cuối hạn bảo hành	Khi xuất xưởng	Cuối hạn bảo hành
1. Phân vi sinh vật cố định nitơ (phân đạm vi sinh) – Vi sinh vật cố định nitơ – Vi sinh vật tạp	$\geq 1{,}0.10^9$ $< 1{,}0.10^6$	$\geq 1{,}0.10^8$ $< 1{,}0.10^6$	$\geq 1{,}0.10^7$	$\geq 1{,}0.10^6$
2. Phân bón vi sinh vật phân giải các hợp chất photpho khó tan – Vi sinh vật phân giải các hợp chất photpho khó tan – Vi sinh vật tạp	$\geq 1{,}0.10^9$ $< 1{,}0.10^6$	$\geq 1{,}0.10^8$ $< 1{,}0.10^6$	$\geq 1{,}0.10^7$	$\geq 1{,}0.10^6$

3. Phân vi sinh vật phân giải xenlulozơ – Vi sinh vật phân giải xenlulozơ – Vi sinh vật tạp	$\geq 1,0.10^9$ $\leq 1,0.10^6$	$\geq 1,0.10^8$ $\leq 1,0.10^6$	$\geq 1,0.10^7$	$\geq 1,0.10^6$
4. Phân bón hữu cơ vi sinh – Vi sinh vật đặc thù – Vi sinh vật tạp	$\geq 1,0.10^9$ $\leq 1,0.10^6$	$\geq 1,0.10^8$ $\leq 1,0.10^6$	$\geq 1,0.10^7$	$\geq 1,0.10^6$

BẢNG 5. MỘT SỐ TIÊU CHUẨN PHÂN VI SINH VẬT (VSV) CỐ ĐỊNH NITƠ Ở CÁC NƯỚC TRÊN THẾ GIỚI

STT	Tên nước	Mật độ VSV khi xuất xưởng	Mật độ VSV sống tối thiểu khi sử dụng	Mật độ VSV tạp	Thời gian bảo quản (tháng)
1	Anh	$1,0.10^9$	1,0.107	< 106	12 - 24
2	Ấn Độ	$1,0 - 1,5.10^8$	$1,0.10^7$	< 106	6 - 9
3	Canada	10^6 tế bào/hạt to 10^5 tế bào/hạt nhỏ		0	12 - 24
4	Hà Lan	$4,0.10^9$	1,0.108		12 - 24
5	Mĩ	2,0.109	1,0.108	< 106	12 - 24
6	Nga	$1,0.10^9$	1,0.107	< 1% số VSV trong sản phẩm	9 - 12
7	Niudilan	$1,0.10^9$		0	12 - 24
8	Pháp	10^6 tế bào/hạt to 10^5 tế bào/hạt nhỏ	$1,0.10^7$	< 106	12 - 24
9	Thái Lan			$< 10^6$	6 - 9
10	Ôxtrâylia	$1,0.10^9$	1,0.107	< 106	12 - 24
11	Việt Nam	$1,0.10^9$	$1,0.10^8$		9

PHẦN IV

PHÂN TÍCH CÂY TRỒNG

Chương 1

PHƯƠNG PHÁP LẤY MẪU THỰC VẬT VÀ CHUẨN BỊ MẪU ĐỂ PHÂN TÍCH

1. Phương pháp lấy mẫu và chuẩn bị mẫu

Để có kết quả phân tích tin cậy thì trước hết cần phải lấy mẫu cây cẩn thận, chính xác, điển hình. Đầu tiên phải chọn mẫu trung bình để phân tích (mẫu có số lượng lớn). Có một số phương pháp chọn mẫu trung bình phụ thuộc vào thí nghiệm mảnh, thí nghiệm sinh dưỡng, quy mô thí nghiệm, điều kiện gieo trồng cây, đặc điểm sinh học cây thí nghiệm. Cần thiết phải lấy mẫu cây đúng, phản ánh đặc điểm thực tế của cây trồng. Trong điều kiện thí nghiệm đồng ruộng thì phụ thuộc vào diện tích thí nghiệm, cây, trạng thái cây trồng và các pha phát triển mà mẫu trung bình lấy theo đường thẳng hay đường chéo với các khoảng cách nhất định, lấy từng khóm cây hay từng cây riêng rẽ, lấy tất cả cây hay từng cơ quan riêng.

Trong thí nghiệm sinh dưỡng, mẫu trung bình được lấy theo vài cây từ mỗi chậu của một công thức, hay lấy tất cả cây của một trong số các lần lặp lại của một công thức.

Tính không đồng nhất về trạng thái cây trồng trong mảnh hay trong chậu thí nghiệm càng lớn thì số mẫu trung bình cần lấy càng lớn. Mẫu trung bình lấy vào một thời điểm và vào buổi sáng. Mẫu trung bình lấy với một lượng đủ lớn có thể từng bó vài kilôgam hay một khối lượng lớn củ, quả.

Giai đoạn sau là chọn mẫu cây để phân tích hay gọi là mẫu phòng thí nghiệm. Mẫu phòng thí nghiệm với khối lượng vừa đủ cho các phân tích được chọn từ mẫu trung bình theo tỉ lệ và theo các phần cơ quan khác nhau (thân, lá, rễ).

Khi phân tích rễ thì mẫu trung bình phải rửa sạch bằng nước và nước cất, thấm khô bằng giấy lọc.

Mẫu hạt được lấy bằng cách trải thành lớp trên giấy dạng hình vuông, chia thành 4 phần, lấy 2 phần đối nhau và làm như thế cho tới khi được một lượng mẫu cần cho phân tích.

Sau khi chọn được mẫu thì một trong khâu quan trọng nhất là cố định mẫu nếu như phân tích không tiến hành ngay.

Để đánh giá về mặt hóa học theo hàm lượng các nguyên tố N, P, K, Ca, Mg, Fe và các nguyên tố vi lượng thì mẫu được sấy khô đến trạng thái khô không khí trong tủ sấy ở nhiệt độ 50 – 60°C. Có những phân tích cần phân tích ngay như tinh bột, protein, axit hữu cơ và nhất là các vitamin (sau vài giờ), trong lúc đó xenlulozơ thì có thể tiến hành phân tích chậm hơn. Các phân tích mẫu tươi đòi hỏi phân tích ngay, thời gian phân tích ngắn. Điều đó khó thực hiện, bởi vậy thường phải cố định mẫu với mục đích ổn định hóa các chất không bền vững. Có các phương pháp cố định mẫu khác nhau phụ thuộc vào nhiệm vụ thí nghiệm.

– *Cố định bằng hơi :* Cố định bằng hơi được sử dụng khi không cần thiết xác định hợp chất hòa tan trong nước (dịch tế bào, đường, kali...). Trong thời gian xử lí mẫu cây thô có thể xảy ra sự tự phân mạnh, thành phần sản phẩm có thể khác ban đầu. Cố định bằng hơi tiến hành như sau : xếp nguyên liệu thành lớp trên lưới trong nồi cách thủy, đun cách thủy trong thời gian 15 – 20 phút. Sau đó sấy khô trong tủ sấy ở nhiệt độ 60°C.

– *Cố định bằng nhiệt độ :* Nguyên liệu thực vật đựng vào khay men hay khay nhôm cho vào tủ sấy ở nhiệt độ 90 – 95° và giữ ở nhiệt độ này trong 10 – 15 phút diệt hoạt tính men. Sau đó sấy mẫu và có quạt thông gió ở 60°C đến khô.

– *Đông lạnh nguyên liệu :* Nguyên liệu thực vật được bảo quản tốt ở nhiệt độ –20°C đến –30°C, sự đông lạnh xảy ra nhanh (khoảng 1 giờ). Phương pháp này bảo quản tốt bởi vì nước trong nguyên liệu được chuyển thành thể rắn. Cần nhớ rằng khi đông lạnh thì các men trong nguyên liệu ngừng hoạt động, sau đó tan đá thì có thể xảy ra sự chuyển hóa các men.

– *Sự thăng hoa hóa nguyên liệu.* Đây là phương pháp làm khô nguyên liệu dựa trên cơ sở bay hơi băng không qua sự tạo thành trung gian pha lỏng. Phương pháp này tiến hành như sau : Nguyên liệu cây được đông lạnh đến trạng thái rắn. Sau đó nguyên liệu được chuyển vào bình hút ẩm có chất làm khô, bình được hút không khí. Sau khi tạo thành trạng thái chân không trong bình hút ẩm thì đóng khóa ngừng bơm. Trong điều kiện đó xảy ra sự làm khô nguyên liệu thực vật. Các chất làm khô (chất hút ẩm) có thể là P_2O_5, $MgCl_2$, $CaCl_2$, Silicagel. $MgCl_2$ và Silicagel có thể sấy lại. Axit H_2SO_4 đặc cũng được sử dụng như chất hút ẩm, nhưng có nhược điểm là sự hút ẩm giảm nhanh. Bản chất sự thăng hoa ức chế hoạt tính men, nhưng men vẫn còn có hoạt tính.

– *Xử lí bằng dung môi hữu cơ :* Có thể sử dụng cồn, ete, axeton để cố định mẫu. Xử lí bằng phương pháp này bỏ qua phân tích các chất hòa tan bị tách vào dung môi. Bởi vậy chỉ áp dụng phương pháp này khi biết rõ chất cần xác định không bị tách vào dung môi. Sau khi cố định mẫu, làm khô và nghiền nhỏ qua rây 1mm.

Toàn bộ mẫu phân tích phải qua rây, nghĩa là phần chưa qua rây phải nghiền lại (nghiền nhỏ có thể dùng thuyền tán, hay máy xay cỡ nhỏ).

Mẫu phòng thí nghiệm đã nghiền nhỏ, trộn đều và trải thành lớp mỏng hình vuông, chia thành 4 phần, và lấy 2 phần để phân tích. Mẫu phân tích có thể gói bằng giấy chống ẩm hay đựng trong lọ có nút nhám.

Để cân mẫu cây chính xác cần phải thực hiện 2 phép cân : Cân khối lượng bì cùng với mẫu, chuyển mẫu vào bình để phân tích và lại cân khối lượng bì. Hiệu số giữa 2 lần cân chính là khối lượng mẫu dùng phân tích.

Công việc phân tích được tiến hành trong phòng thí nghiệm không có hơi NH_3, axit bay hơi và các chất khác ảnh hưởng đến kết quả.

Kết quả phân tích có thể được tính ra khối lượng khô không khí hoặc là khối lượng khô tuyệt đối. Ở trạng thái khô không khí thì số lượng nước trong mẫu cân bằng với hơi nước trong không khí. Nước này gọi là nước hiđroscopic, số lượng của nó phụ thuộc vào nguyên liệu và trạng thái không khí. Không khí càng ẩm thì hàm lượng nước hiđroscopic trong mẫu càng lớn. Để có kết quả phân tích tính ra khối lượng tuyệt đối cần phải xác định số lượng nước hiđroscopic.

2. Xác định độ ẩm hiđroscopic (độ ẩm không khí)

– *Quá trình xác định :* Sấy chén cân và nắp đến khối lượng không đổi, cân khối lượng chén. Cân trên cân phân tích 2 – 4g mẫu cho vào chén, đậy nắp hở, cho vào tủ sấy. Sấy ở nhiệt độ 105°C trong thời gian 3 giờ. Đậy chặt nắp và đặt vào bình hút ẩm. Cân và sau đó sấy tiếp 1,5 – 2 giờ đến khối lượng không đổi (phụ thuộc vào loại nguyên liệu cây và loại cơ quan mà thời gian sấy khác nhau).

– *Tính kết quả :*

$$H_2O(\%) = \frac{x \cdot 100}{y}$$

x = a – b ; y = b – c.

a : khối lượng chén, nắp và nguyên liệu trước khi sấy (g).

b : khối lượng chén, nắp và mẫu sau khi sấy (g).

c : khối lượng chén không có mẫu.

Chương 2

PHƯƠNG PHÁP TRO HÓA MẪU THỰC VẬT

1. Phương pháp tro hóa khô

Chất khô của cây bao gồm hợp chất hữu cơ và khoáng. Sau khi đốt chất hữu cơ ở dạng tro thô, thì trung bình 5 – 15% khối lượng chất khô của cây gồm các nguyên tố quan trọng đối với cây như photpho, kali, canxi, magie, mangan, sắt... có thể lẫn một số chất khác.

Số lượng và thành phần tro thay đổi phụ thuộc vào cây trồng, cơ quan cây, điều kiện khí hậu, đất, thời gian sinh trưởng, sử dụng phân bón và các yếu tố khác (ở lá tro giàu hơn thân). Theo thời gian sinh trưởng, hàm lượng tương đối của tro giảm và thay đổi thành phần, chất lượng : tăng hàm lượng Ca, Mg, giảm K, P_2O_5 và các nguyên tố tro khác.

Để xác định phần trăm tro thô của cây người ta sử dụng phương pháp tro hóa khô (đốt khô), còn xác định thành phần, chất lượng, người ta sử dụng phương pháp đốt khô và đốt ướt.

– *Nguyên lí phương pháp :* Phương pháp dựa trên nguyên tắc đốt chất hữu cơ ở nhiệt độ cao trong lò nung. Phương pháp này đơn giản nhanh được áp dụng ở các phòng thí nghiệm. Tro thu được bằng phương pháp này có thể xác định được những nguyên tố không bay hơi ở nhiệt độ 500°C như Ca, Mg, K, Al, Mn.

– *Trình tự phân tích :*

Nung chén sứ (25ml) ở nhiệt độ 500 – 600°C trong thời gian 2 – 3 giờ đến khối lượng không đổi. Cân khối lượng chén.

Cân 1g mẫu cây khô không khí cho vào chén.

Đốt nhẹ trên ngọn lửa đèn cồn hay bếp điện để tro hóa sơ bộ mẫu (không để cháy bùng) với thời gian 15 – 20 phút.

Tro hóa tiếp mẫu trong lò nung ở nhiệt độ không cao hơn 520°C trong thời gian 1,5 – 2 giờ (lớn hơn 520°C thì kali, natri có thể bị mất).

Để nguội chén trong bình hút ẩm và cân khối lượng chén chứa mẫu.

Tro hóa lại 40 – 60 phút, để nguội và cân. Tro hóa kết thúc khi 2 lần cân cuối cùng chênh nhau 0,0005g.

Tro có thể có màu khác nhau : màu xám sáng, màu xám, màu hơi xanh có ánh nâu... do sự có mặt của các nguyên tố vi lượng : Cu, Mn, Fe.

$$\text{Lượng tro (\%)} = \frac{a \,.\, 100}{n}$$

a : khối lượng tro (g) – hiệu số khối lượng chén có mẫu và khối lượng chén ; n : khối lượng mẫu khô không khí lấy để tro hóa (g) ; 100 để tính ra %.

Tính ra khối lượng khô tuyệt đối theo công thức :

$$\text{Tro thô (\%)} = \frac{a \,.\, 100 \,.\, 100}{n(100 - y)}$$; y là độ ẩm hiđroscopic của mẫu cây phân tích.

Hòa tan tro : Hòa tan tro để xác định thành phần chất lượng tro :

Thấm ướt tro trong chén bằng một vài giọt nước cất, rót theo thành chén.

Cho vào chén 5ml dung dịch HCl 20% dùng đũa thủy tinh trộn đều.

Rót vào 15 – 20 ml nước cất nóng để hòa tan hoàn toàn tro và để giảm nồng độ axit trước khi lọc.

Lọc qua giấy lọc không tro, nước lọc chứa vào bình định mức 100ml, rửa sạch chén, đũa và giấy lọc 4–5 lần bằng nước cất nóng.

Để nguội dung dịch trong bình và định mức tới vạch mức.

– *Hóa chất :* HCl 20% (d = 1, 12).

2. Phương pháp tro hóa ướt (Theo Lebedianxev)

– Phương pháp dựa trên sự oxi hóa chất hữu cơ bằng chất oxi hóa mạnh (hỗn hợp axit đặc).

Phương pháp tro hóa ướt cho phép xác định : photpho, kali, natri (khi tro hóa khô các nguyên tố này dễ bị mất). Phương pháp tro hóa ướt lâu hơn, nhưng chính xác hơn, xác định Ca khó khăn hơn so với phương pháp tro hóa khô. Phương pháp tro hóa ướt chủ yếu để xác định photpho.

Để oxi hóa chất hữu cơ dùng hỗn hợp H_2SO_4 và HNO_3 đậm đặc (nhiệt độ sôi HNO_3 là 120,5°C, của H_2SO_4 là 338°C). Ở nhiệt độ sôi nói trên khi tác dụng với chất hữu cơ thì oxi hoạt tính được giải phóng tạo điều kiện tro hóa ($H_2SO_4 \rightarrow 2SO_2 + 2H_2O + O_2$ và $HNO_3 \rightarrow 4NO_2 + 2H_2O + O_2$).

Sau khi tro hóa, lượng HNO_3 thừa loại trừ bằng bay hơi cùng với H_2O, trong dung dịch còn lại muối của H_2SO_4 và axit photphoric.

– *Trình tự phân tích :*

Cân 0,2 – 0,3g mẫu cây phân tích chuyển cẩn thận vào bình Kenđan (không để dính ở thành bình).

Dùng ống đong cho vào bình 15 ml HNO_3 đặc để yên vài giờ (có thể qua đêm).

Đặt bình trên bếp điện đun mạnh dần đến khi ngừng thải khí màu nâu của HNO_3 (thể tích dung dịch còn khoảng 3 – 5ml, dung dịch trở nên sáng hơn) để nguội bình.

Thêm 1ml H_2SO_4 đặc, đặt bình trực tiếp trên bếp điện đun đến khi có khí SO_2 màu trắng của axit sunphuric (H_2SO_4) (dùng nhiều axit sunphuric và sôi quá mạnh có thể làm mất photpho). Để nguội bình.

Thêm 10 – 15 giọt HNO_3 đặc và đun tiếp đến khi có khí SO_2 trắng thoát ra.

Thêm axit nitric lặp lại vài lần quá trình tro hóa cho tới khi dung dịch trắng hay trong suốt thì sự tro hóa kết thúc. Trong dung dịch có thể có cặn của axit silicic và của thạch cao.

Chuyển dung dịch vào bình định mức 100ml, tráng bình Kenđan nhiều lần bằng nước cất (có thể lọc qua giấy lọc không tro), định mức tới vạch bằng nước cất.

Để phân tích canxi cần phải hòa tan kết tủa (cặn) tạo thành trong dung dịch bằng HCl 10%.

– *Hóa chất :*

Axit HNO_3 đặc (d = 1,40).

Axit H_2SO_4 đặc (d = 1,84).

HCl 10%.

Chương 3

XÁC ĐỊNH TỔNG SỐ NGUYÊN TỐ DINH DƯỠNG TRONG THỰC VẬT

1. Xác định photpho trong thực vật (theo Denhide)

Phân tích photpho trong thực vật để biết được mức độ cung cấp nguyên tố này cho thực vật và đề ra mức bón phân photphat. Photpho ở trong cây chủ yếu ở dạng hữu cơ và phần nhỏ ở dạng khoáng. Hàm lượng tổng số của photpho trong thực vật khoảng 1 – 2% ; trong hạt nhiều photpho hơn trong thân, lá. Hàm lượng photpho thay đổi phụ thuộc vào điều kiện đất, khí hậu, đặc điểm sinh học cây, chế độ dinh dưỡng và các yếu tố khác.

Phương pháp phổ biến nhất xác định photpho trong cây được Denhide đề xuất.

– *Nguyên lí phương pháp* : Cơ sở của phương pháp là ion photphat trong môi trường axit yếu tạo với amoni molipđat phức dị đa axit – photpho molipđat $H_7[P(Mo_2O_7]_6.nH_2O$. Khi thêm vào chất khử mạnh ($SnCl_2$) thì molipđen hóa trị 6 bị khử đến hóa trị 5 và các hóa trị thấp hơn đồng thời tạo màu xanh photpho molipđat và dung dịch có màu xanh da trời. Cường độ màu tỉ lệ với hàm lượng photpho trong dung dịch và có thể xác định bằng so màu.

– *Trình tự phân tích :*

Lấy 5 – 10 ml dung dịch sau khi tro hóa ướt theo Lebedianxep, cho vào bình định mức 50 ml.

Thêm 20 – 25 ml nước cất, trung hòa theo chỉ thị phenolphtalein bằng NH_4OH 10% đến màu hồng nhạt.

Làm mất màu bằng cách thêm từng giọt H_2SO_4 1%.

Thêm 1 ml dung dịch amoni molipđat, lắc thật đều.

Thêm 3 giọt $SnCl_2$ hay 0,002 – 0,003g axit ascorbic lắc đều, định mức tới vạch 50ml.

Sau 10 – 15 phút tiến hành so màu, cũng giống như khi đo dung dịch màu tiêu chuẩn.

– *Tính kết quả :* Hàm lượng P_2O_5 trong cây được tính bằng phần trăm theo công thức sau :

$$P_2O_5\ (\%) = \frac{a \cdot p \cdot 100}{n \cdot 100}$$

a : số lượng mg photpho tìm thấy ở đồ thị.

p : độ pha loãng.

100 : để biểu diễn ra %.

n : số gam chất khô.

– *Hóa chất :*

NH_4OH 10%.

H_2SO_4 1%.

Phenolphtalein $C_{20}H_{14}O_4$: 1g hòa tan trong 100 ml cồn 96%.

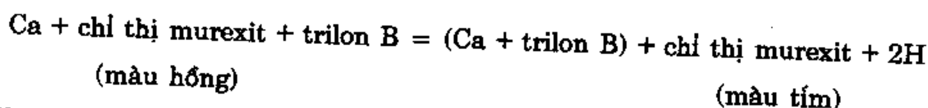
Dung dịch amoni molipdat (sunfomolipdat amon) : Cân 20g $(NH_4)_6Mo_7O_{24}$ cho vào bình 1 lít màu tối, thêm vào 200ml nước trộn đều đến khi hoàn toàn hòa tan (1). Trong một ống đong khác cho vào đó 600ml nước cất và rót từ từ vào đây 180ml H_2SO_4 (d = 1,84), để nguội đến nhiệt độ phòng và rót vào bình 1. Bảo quản dung dịch trong lọ thủy tinh màu tối.

Dung dịch thiếc II clorua.

Dung dịch chuẩn KH_2PO_4 : Cân 0,1917g KH_2PO_4 đã rửa bằng kiềm và sấy khô, cho vào bình định mức 1 lít hòa tan bằng nước cất định mức tới vạch, lắc đều. Lấy 25ml dung dịch này pha loãng đến 250ml, trong 1ml dung dịch này chứa 0,01mg P_2O_5 . Chuẩn bị các bình 50 ml để xây dựng các thang màu tiêu chuẩn (xem thêm phần phân tích đất).

2. Xác định canxi trong thực vật bằng phương pháp complexon

– *Nguyên lí phương pháp :* Phương pháp dựa vào phản ứng canxi tạo với chỉ thị màu murexit ($C_8H_4O_6N_{15}NH_4$) thành hợp chất phức màu hồng. Chuẩn độ phức này bằng trilon B cho đến khi chuyển từ màu hồng sang màu tím (hoa cà). Sơ đồ phản ứng chuẩn độ như sau :



Trilon B có khả năng tạo phức bền với ion Ca, Mg và một số nguyên tố khác. Sự thay đổi màu xảy ra trong khoảng pH từ 9,6 – 11,6, vì vậy cần thêm KOH hay NaOH để tạo môi trường kiềm mạnh của dung dịch chuẩn độ. Sự có mặt của NH_4^+, Cu^{2+} , Mn^{2+}, Fe^{2+} làm cản trở quá trình phân tích bởi vậy khi phân tích cần pha loãng dung dịch và thêm chất che để loại trừ ảnh hưởng.

– *Trình tự phân tích :*

Dùng pipet lấy 5 ml dung dịch cho vào bình tam giác 125ml + thêm 50ml nước cất.

Thêm 3ml dung dịch NaOH 10% để đưa dung dịch đến pH = 12.

Thêm 3 giọt $Na_2S.9H_2O$ 2,5% , 8 giọt hidroxylamin.

Thêm khoảng 50mg hỗn hợp murexit với NaCl, lắc đều.

Chuẩn độ dung dịch bằng trilon B đến điểm kết thúc có màu tím.

– *Tính kết quả.* Tính hàm lượng CaO (mgđl/ 100g chất khô) :

$$CaO = \frac{a \cdot N \cdot p \cdot 100}{n}$$

a : số ml trilon B tiêu tốn khi chuẩn độ, N : nồng độ của trilon B.

p : hệ số pha loãng ; n : khối lượng mẫu.

Nếu tính ra % thì lấy kết quả trên nhân với đương lượng canxi (0,02g).

– *Hóa chất* :

Hiđroxylamin clorit NH_2OH. HCl 5%.

$Na_2S.9H_2O$ 1%, pha trước khi sử dụng.

KOH 10%.

Hỗn hợp murexit : 0,25g murexit + 25g NaCl. Hỗn hợp muối khô đựng trong lọ màu tối.

+ Trilion B (dung dịch 0,01N).

3. Xác định magie trong thực vật (chuẩn độ tổng Ca và Mg bằng trilon B)

– *Nguyên lí phương pháp* : Phương pháp trilon B cho phép xác định tổng lượng Ca + Mg.

Phản ứng chuẩn độ xảy ra trong khoảng pH nhất định (pH = 9 – 10) và khi có mặt Cu, Mn, Fe và một số nguyên tố khác có ảnh hưởng đến phép xác định, vì vậy phải có mặt chất loại trừ ảnh hưởng.

– *Trình tự phân tích* (cách 1) :

Dùng pipet lấy 5 ml dung dịch phân tích cho vào bình tam giác pha loãng bằng nước cất đến 50 ml.

Thêm 5 ml dung dịch đệm để đưa pH = 10.

Thêm 8 giọt hiđroxylamin, 3 giọt natrisunfit.

Thêm 0,02 – 0,03g hỗn hợp chỉ thị màu cromogen đen.

Chuẩn độ bằng trilon B 0,01N đến màu xanh (blue).

– *Tính kết quả*. Hàm lượng tổng số Ca + Mg (mgđl/100g) được tính theo :

$$CaO + MgO = \frac{a.N.p.100}{n}$$

a : số ml trilon B tiêu tốn khi chuẩn độ.

N : nồng độ của trilon B.

p : hệ số pha loãng.

n : khối lượng mẫu khô lấy phân tích

MgO (mgđl/100g) = Tổng CaO + MgO (mgđl/100g) – CaO (mgđl/100g) với chỉ thị màu murexit.

– *Hóa chất* :

Dung dịch 3% $NH_2OH.HCl$ (hay $NH_2OH.H_2SO_4$).

Dung dịch $Na_2S.9H_2O$ 1%.

Dung dịch đệm amoniac : 25g NH_4Cl pha trong 100ml nước cất không Ca, Mg, thêm vào 200 ml NH_4OH 20% định mức đến 1 lít. Trước khi sử dụng kiểm tra pH bằng cách thêm 1 – 2 giọt phenolphtalein, nếu xuất hiện màu hồng thì được.

Cromogen đen : 0,25g chỉ thị tán nhỏ trộn với 25g NaCl hay KCl.

Dung dịch trilon B : Cân 3,722g trilon B pha trong 1 lít nước cất không Ca, Mg. Kiểm tra độ chuẩn bằng cách chuẩn với dung dịch $MgSO_4$ 0,1N (pha từ ống chuẩn).

– *Trình tự phân tích* (cách 2) :

Dùng pipet lấy 5 ml dung dịch cho vào bình tam giác, pha loãng bằng 50ml nước cất.

Thêm 5 ml dung dịch đệm để đưa pH = 10.

Thêm 1 ml dung dịch kalixianua 2%.

Thêm 0,02 – 0,03g hỗn hợp chỉ thị cromogen đen.

Chuẩn độ bằng dung dịch trilon B đến màu xanh.

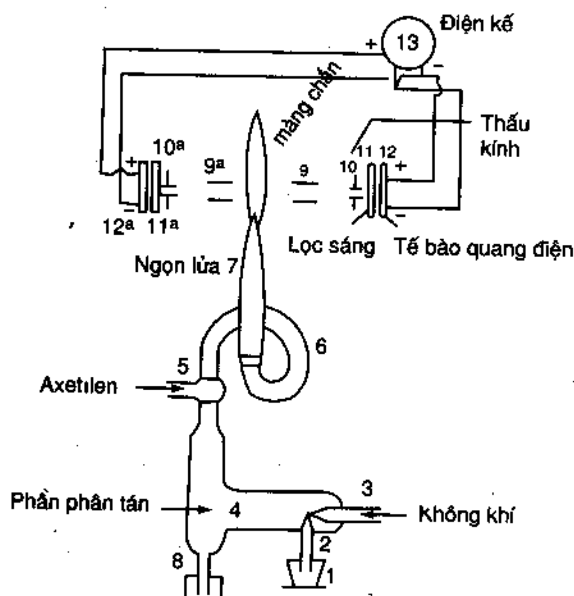
4. Xác định kali trong thực vật.

Hiện nay các phòng thí nghiệm ở nước ta cũng như ở nước ngoài, để xác định nhanh các nguyên tố kali, canxi, natri và một số nguyên tố khác đều sử dụng phương pháp quang kế ngọn lửa (flame photometer method).

– *Trình tự phân tích.* Dung dịch sau khi tro hóa khô, lấy một phần để phân tích kali cho vào cốc thủy tinh hay chén sứ nhỏ.

Cốc đựng dung dịch phân tích đặt dưới ống hút 2. Không khí đi qua ống 3 với áp lực 500mmHg vào bộ phận phân tán 4, dung dịch phân tích bị phân tán thành mây mỏng.

Trên đường chuyển động của dịch nghiên cứu dạng mây gặp dòng axetilen 5 (được nạp vào dưới áp lực 400 mmHg)



Hình 35 – Sơ đồ quang kế ngọn lửa

Ở trong ống dẫn 6 hòa lẫn khí axetilen + dịch nghiên cứu và không khí. Sau đó hỗn hợp đi vào ngọn lửa 7, ở đây bị đốt cho ngọn lửa phát xạ đặc trưng. Lượng thừa của dịch nghiên cứu chạy ngược lại qua ống 8. Khi thay dịch nghiên cứu phải rửa ống hút 2 bằng nước cất, còn phần khác không cần thiết.

Bên cạnh ngọn lửa ở vị trí ngọn lửa sáng nhất người ta đặt màng ngăn (điafram) hình trụ (9), nhờ màng ngăn mà chiều dài ngọn lửa bị cắt thành phần kích thước 1,5 – 2cm.

Để không cho chùm sáng phân tán đến lọc sáng và giảm ánh sáng không đơn sắc, người ta đặt thấu kính thủy tinh 10 tăng tính đơn sắc của ánh sáng, do vậy tăng độ chính xác của phương pháp.

Sau thấu kính đặt kính lọc sáng 11 chủ yếu cho qua tối đa sóng ánh sáng có độ dài nhất định và giữ các sóng còn lại. Độ dài sóng ánh sáng được phát ra do ion kali bị kích thích bằng 7665/99 Å và natri là 5890/95 Å.

Qua kính lọc sáng, ánh sáng đập vào tế bào quang điện 12, dòng điện xuất hiện được đo bằng điện kế 13 (hình 35).

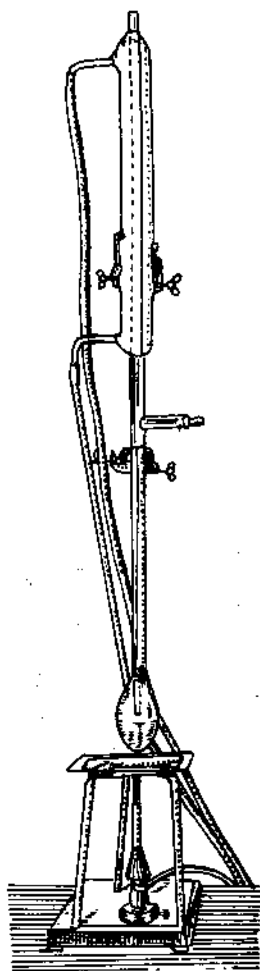
Xác định kali người ta sử dụng tế bào quang điện bạc – lưu huỳnh và natri là tế bào quang điện selen.

– *Tính kết quả* . Tính kết quả kali theo đồ thị hay bằng phương pháp thang chuẩn (xem phần phân tích đất).

5. Xác định lưu huỳnh trong thực vật (phương pháp khối lượng)

Lưu huỳnh là một nguyên tố dinh dưỡng quan trọng đối với cây trồng. Lưu huỳnh có trong thành phần của hai axit amin metionin, xistin tham gia trong thành phần protein. Trong hạt ngũ cốc hàm lượng tổng số SO_3 là 0,35 – 0,40, trong rơm rạ là 0,12 – 0,30. Trong hạt cây họ Đậu hàm lượng SO_3 lớn hơn gần 0,50%.

– *Nguyên lí phương pháp :* Xác định lưu huỳnh tổng số trong thực vật dựa trên cơ sở tro hóa mẫu bằng HNO_3 và H_2O_2 trong điều kiện nhiệt độ không cao. Trong điều kiện nhiệt độ cao có khả năng mất lưu huỳnh ở dạng oxit. Trong dung dịch sau khi tro hóa lưu huỳnh ở dạng H_2SO_4 và muối của nó được kết tủa bằng $BaCl_2$. Tách kết tủa $BaSO_4$ rửa, nung kết tủa và cân.



Hình 36 – Dụng cụ tro hóa xác định lưu huỳnh tổng số

– *Trình tự phân tích :*

Cân 1 g mẫu cần xác định cho vào bình cổ dài (hình 30), thêm vào 15ml HNO_3 đặc, nối bình đốt với hệ thống sinh hàn, để yên vài giờ không đun (hình 36).

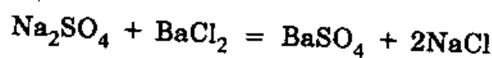
Sau đó đun, giữ cho axit sôi nhẹ (sôi mạnh có thể mất lưu huỳnh do bay hơi).

Khi hết khí màu nâu đioxitnitơ bay ra thì thêm vài giọt H_2O_2 theo ống sinh hàn vào bình đốt. Nếu dung dịch trong bình cạn bớt do bay hơi có thể thêm vài ml HNO_3 qua ống sinh hàn.

Tro hóa kết thúc khi dung dịch trong bình không màu và trong suốt. Ở điều kiện thuận lợi thì sự tro hóa kéo dài 6 – 8 giờ.

Kết tủa axit silicic Thêm vào trong bình sau khi tro hóa 10ml nước cất, lọc dung dịch vào bát sứ dung tích 50ml qua giấy lọc trung bình. Rửa kết tủa bằng nước cất nóng vài lần. Dung dịch trong bát sứ bay hơi trên nồi cách thủy đến khô, phần cặn hòa tan bằng HCl, lọc qua giấy lọc. Tiến hành hòa tan và lọc khoảng 3 – 4 lần. Dịch lọc thu vào bình định mức 200ml, rửa phần trên giấy lọc vài lần bằng nước cất nóng nước rửa cũng thu vào bình định mức trên. Định mức bằng nước cất lạnh đến vạch, lắc đều. Lưu huỳnh trong dung dịch ở dạng SO_4^{2-}.

Lấy 50ml dung dịch chứa lưu huỳnh cho vào cốc 200 ml, axit hóa dung dịch bằng 0,3 - 0,5mlHCl 10%. Đun dung dịch đến sôi, thêm vào 3 - 5 ml dung dịch $BaCl_2$ đun sôi tiếp 2 - 3 phút để tạo thành kết tủa.



$$Na_2SO_4 + BaCl_2 = BaSO_4 + 2NaCl$$

Axit hóa dung dịch trước khi kết tủa để tạo điều kiện hình thành tinh thể lớn của kết tủa $BaSO_4$, khi lọc tách dễ hơn. Giữ yên kết tủa 4 giờ trong tủ ấm hay trong nồi cách thủy. Cần thử dịch trong trên kết tủa có còn SO_4^{2-} nữa không bằng cách thêm vài giọt $BaCl_2$, nếu có hơi đục chứng tỏ còn SO_4^{2-}.

Để tạo kết tủa hạt lớn trước khi kết tủa thêm vào cốc 3 - 5 giọt dung dịch axit picric 1%.

Khi đã kết tủa hoàn toàn, đã qua 4 giờ trong tủ ấm, lọc lấy kết tủa qua giấy lọc dày.

Rửa kết tủa trên giấy lọc bằng nước cất nóng đã axit hóa bằng HCl cho đến khi không có phản ứng của Ba^{2+} (với SO_4^{2-}).

Sau khi rửa xong, lấy giấy lọc gói kết tủa rồi cho vào chén sứ nung và đặt vào lò nung để tro hóa giấy lọc (giấy lọc không tro) và nung kết tủa. Nhiệt độ nung cần $\leq 750^o$, 800^oC $BaSO_4$ có thể bị phân giải. Khi tro hóa kết thúc thì có thể nung khoảng 20 phút là được.

Chén và kết tủa để nguội trong bình hút ẩm, cân trên cân phân tích. Nung tiếp tục và lại cân đến khi khối lượng không đổi.

- *Tính kết quả.* Hàm lượng lưu huỳnh tính ra SO_3 biểu diễn % khối lượng khô, theo công thức sau :

$$x = \frac{[a - (b + c)] \cdot 0,3429 \cdot 100 \cdot 100}{n(100 - y)}$$

a : khối lượng chén và kết tủa $BaSO_4$.

b : khối lượng chén.

c : khối lượng tro giấy lọc.

0,3429 : hệ số chuyển $BaSO_4$ thành SO_3.

100 : biểu diễn ra %.

$\frac{100}{100 - y}$: hệ số chỉnh thành độ ẩm (hiđroscopic) của mẫu phân tích (y = % độ ẩm hiđroscopic) :

- *Hóa chất :*

Axit HNO_3 (d = 1,42).
H_2O_2 30 - 40%.
$KClO_3$ tinh khiết.
HCl d = 1,19 và HCl 10%.
$BaCl_2.2H_2O$ 10%.
$AgNO_3$ 0,01.

6. Xác định sắt trong thực vật (phương pháp so màu)

– *Nguyên lí phương pháp :* Sau khi tro hóa mẫu thực vật, sắt tồn tại ở dạng Fe^{3+}. Nguyên lí của phương pháp là khử Fe^{3+} về Fe^{2+}, Fe^{2+} phản ứng với o–phenanthrolin tạo thành phức màu đỏ da cam. Cường độ màu ổn định giữa độ pH từ 2,0 đến 9,0.

– *Trình tự phân tích :* Lấy một lượng dung dịch xác định tương đương 10 – 40mg sắt cho vào bình định mức 25ml.

Thêm 1ml hiđroxylaminclorit và đưa thể tích gần 15ml bằng nước cất.

Thêm 2,5ml dung dịch o–phenanthrolin và lắc đều.

Thêm 2,5ml dung dịch natri axetat và định mức bằng nước cất đến vạch, lắc đều.

Để yên 30 phút và so màu ở bước sóng 510nm.

So màu thang màu tiêu chuẩn.

– *Tính kết quả :*

$$\text{Hàm lượng Fe (mg/kg)} = \frac{a \, . \, V_o \, . \, 1000}{V_1 \, . \, n \, . \, 1000} = \frac{a \, . \, V_o}{nV_1}$$

a : số mg Fe tìm thấy theo đồ thị.

V_o : thể tích ban đầu (toàn bộ).

V_1 : thể tích lấy phân tích.

n : khối lượng mẫu (g).

1000 : hệ số chuyển đổi kết quả.

– *Hóa chất :*

Hiđroxylaminclorit 5% : hòa tan 5g hiđroxylamin trong 100ml nước cất.

Natri axetat 3N : hòa tan 408g natri axetat trong 1 lít.

O–phenanthrolin 0,1% : hòa tan 0,1g o–phenanthrolin trong 100ml nước cất.

Axit nitric 5N : Lấy 6ml HNO_3 đặc cho vào nước và thêm nước đến 50ml.

Dung dịch sắt tiêu chuẩn : Hòa tan 0,8634g $NH_4Fe(SO_4)_2.12H_2O$ tinh khiết được bảo quản trong bình hút ẩm, thêm vào 2ml HCl đặc (d = 1,19) đưa thể tích đến 1 lít. Dung dịch chứa 100mg/1ml Fe. Lấy 10ml dung dịch gốc pha đến 1 lít bằng nước cất, dung dịch này chứa 1mg/1ml Fe. Cấu tạo thang màu chuẩn từ 0–4mg Fe/1ml.

7. Xác định một số nguyên tố vi lượng trong thực vật

Một số nguyên tố dinh dưỡng ở trong đất mà cây đòi hỏi với một lượng rất nhỏ, gọi là nguyên tố vi lượng, chúng thường biểu hiện thiếu trong một số đất. Những nguyên tố đó là bo, đồng, mangan, kẽm và các nguyên tố khác. Một số nguyên tố vi lượng như iot, coban có thể thiếu trong thức ăn có nguồn gốc thực vật nên chúng đã ảnh hưởng đến sinh trưởng và sức sản xuất của động vật.

a) Xác định bo trong thực vật với cacmin. Bo cần cho sự phát triển bình thường và sự phân hóa tế bào thực vật, sự hình thành cơ quan di truyền. Thiếu bo thì phần

non của thực vật bị tổn thất. Khi phân tích cây nếu hàm lượng của bo (B) < 15 ppm thì thiếu nguyên tố này, trong khoảng > 15 - 100 thì coi như bình thường, lớn hơn 100 ppm có triệu chứng độc. Xác định bo bằng phương pháp so màu là phổ biến nhất.

– *Nguyên lí phương pháp*. Dựa vào phản ứng của bo với dẫn xuất α – oxiantraquinol, quinalizarin, cacmin tạo thành phức màu. Đo cường độ màu sẽ biết được hàm lượng của bo. Cần lưu ý rằng bo trong thực vật với lượng rất nhỏ, hợp chất của nguyên tố này dễ mất do bay hơi nhất là khi dung dịch có phản ứng axit và nhiệt độ cao. Mặt khác dụng cụ phòng thí nghiệm bình thường hay bẩn nguyên tố này (dụng cụ thủy tinh, giấy gói chứa bo). Vì vậy cần phải phân tích trong chén platin, chén thạch anh, thủy tinh không bo.

– *Trình tự phân tích :*

Cân 20 - 30g mẫu tươi đã nghiền nhỏ (5 - 10g mẫu khô không khí) cho vào chén platin. Đồng thời cân một lượng mẫu để xác định độ ẩm.

Thấm ướt mẫu bằng 5ml NaOH 5%, lắc nhẹ đều và đặt vào lò nung lạnh (chưa cắm điện).

Nâng dần cho đến nhiệt độ 450°C và giữ ở nhiệt độ này để tro hóa hoàn toàn mẫu.

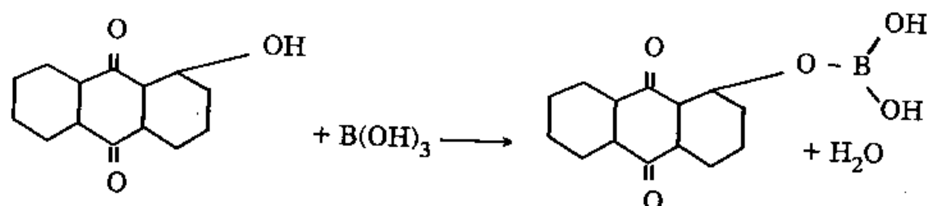
Thêm vào cặn tro nguội 1ml hipophotphit 10% và 19ml H_2SO_4 0,5N để hòa tan cặn. Nếu tro chứa nhiều Si không hòa tan hết thì lọc.

Lấy 1 hay 2ml dung dịch cho vào ống nghiệm không bo, hay chén thạch anh, thêm 18ml dung dịch cacmin 0,005%. Lắc đều dung dịch, để yên 1 giờ ở nơi tối.

Tiến hành tương tự để xây dựng đồ thị chuẩn có hàm lượng bo từ 0,5 đến 10mg.

Cường độ màu của dung dịch được đo trên máy so màu (với cuvet 2cm, kính lọc sáng No7)

b) Xác định bo trong dung dịch bằng quinalizarin. Quinalizarin hay là 1, 2, 5, 8 tetraoxiantraquinol với axit boric tạo thành phức xanh da trời.



Sự tạo thành phức màu chỉ xảy ra trong dung dịch H_2SO_4, ở nồng độ < 84% theo khối lượng. Fe^{3+}, H_2O_2, NO_3^- và chất hữu cơ màu có ảnh hưởng tới việc phân tích.

– *Trình tự phân tích :*

Lấy 10 - 20ml dung dịch cho vào bình 50ml (thủy tinh không bo).

Thêm 3ml H_2O_2 30% để phá hủy chất hữu cơ.

Đun dung dịch trên bếp cách thủy 1 - 2 phút cho đến lúc dung dịch trở nên không màu.

Để tránh sự bay hơi của bo, thêm 2 giọt NaOH 2N và bay hơi đến khô.

Để loại trừ ảnh hưởng Fe^{3+}, NO_3^- thêm 1ml dung dịch canxi hipophotphit và 9ml dung dịch quinalizarin

Lắc đều và để yên 2 giờ, sau đó tiến hành đo màu.

Dung dịch so sánh là 1ml nước cất và 9ml dung dịch quinalizarin. Xây dựng đồ thị chuẩn với hàm lượng bo từ 0,5 - 10mg.

- *Tính kết quả.* Hàm lượng bo tính theo công thức sau :

$$X = \frac{a \cdot V_o \cdot 1000}{nV_1 \cdot 1000} = \frac{a \cdot V_o}{nV_1}$$

X : hàm lượng bo (mg/kg).

a : số lượng bo tìm theo đồ thị (μg).

V_o : thể tích ban đầu (ml).

V_1 : thể tích lấy để phân tích (ml).

n : khối lượng mẫu (g).

- *Hóa chất :*

Quinalizarin. Dung dịch gốc : 0,150g hòa tan trong 10ml H_2SO_4 (d = 1,84) và bảo quản trong lọ thủy tinh màu. Dung dịch phân tích : Lấy 10ml dung dịch gốc pha đến 1 lít bằng H_2SO_4 đặc.

Cacmin 0,005% : 50mg cacmin hòa tan trong 1 lít H_2SO_4 đặc.

Dung dịch tiêu chuẩn bo : 2,8578g H_3BO_3 hòa tan trong 1 lít nước cất. Dung dịch thu được có nồng độ 500μg/ml.

Dung dịch chuẩn A (nồng độ bo 10mg/ml) : 5ml dung dịch gốc pha loãng bằng nước đến 250ml.

Dung dịch chuẩn B (nồng độ bo 5μg/ml) : lấy 50ml dung dịch A pha loãng bằng nước đến 100ml.

Dung dịch chuẩn C (nồng độ bo 1μg/1ml) : 10ml dung dịch A pha loãng bằng nước đến 100ml.

Cần nồng độ bo trong 1ml trong khoảng từ 0,5 - 10μg được chuẩn bị từ dung dịch gốc hay một trong những dung dịch trên (A, B, C). Nếu cần thiết nồng độ nhỏ hơn thì pha loãng thêm.

Dung dịch hipophotphit : 10g muối canxi hipophotphit (có thể Na, K, NH_4) hòa tan trong 5ml HCl đặc và định mức tới vạch bằng axit.

H_2SO_4 0,5N : Lấy 14ml H_2SO_4 (d = 1,84) pha loãng bằng nước tới 1 lít.

c) Xác định molipden trong thực vật. Molipđen có vai trò rất lớn trong sự đồng hóa nitơ phân tử của thực vật - cố định N_2, khử nitrat, tổng hợp axit ascobic.

Cây có thể chứa từ 0,1ppm đến 300 ppm Mo (trung bình 0,1 – 2,0ppm), lá thường chứa nhiều Mo hơn thân. Cây có khả năng bị độc khi hàm lượng Mo trong cây > 15ppm.

Xác định hàm lượng molipđen trong cây để điều khiển điều kiện dinh dưỡng Mo đối với cây trồng. Molipđen có thể được định lượng bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử hay so màu. Sau đây trình bày phương pháp so màu xác định molipđen trong thực vật.

– *Nguyên lí phương pháp :* Phương pháp kalithioxianat xác định molipđen dựa vào khả năng của molipđen (hóa trị 5) tác dụng với KCNS tạo thành phức màu da cam, và phức màu được chiết bằng dung môi hữu cơ (butanol, rượu amilic, ête, clorofooc xiclohexan) và đo cường độ màu. Cường độ màu của phức phụ thuộc vào độ axit, nồng độ ion CNS^-. Rượu isoamilic là tốt nhất để chiết phức màu vì nó hòa tan ít trong nước và màu của phần chiết rõ nhất.

– *Trình tự phân tích :*

Cân 10 – 50g chất khô (phụ thuộc vào hàm lượng Mo) tro hóa khô trong lò nung, với nhiệt độ tăng dần và không cao hơn 550°C.

Sau khi tro hóa xong, hòa tan tro bằng HCl, nước, đun sôi và lọc vào cốc thạch anh.

Nếu trên giấy lọc còn nhiều phần cặn màu đen thì lại tro hóa tiếp, và hòa tan bằng HCl (tỉ lệ 1 : 1).

Lọc và thu dịch lọc vào cốc thạch anh.

Chuyển một phần nhất định dịch lọc cho vào bát thạch anh nung cẩn thận để loại trừ vết chất hữu cơ.

Phần cặn trong bát thạch anh hòa tan bằng từng phần nhỏ nước và gạn phần hòa tan vào bình định mức 50ml (lượng nước tốn không hơn 10 – 12ml) trung hòa bằng kiềm.

Thêm vào bình lần lượt 25ml NaCl 20%, 7ml HCl (d = 1,16), 5ml H_2SO_4 (d = 1,40), 1ml dung dịch thiourê 1% và 1ml dung dịch amonithioxianat 50% (tốt nhất là KCNS 64%). Sau mỗi lần thêm 1 thuốc thử phải lắc đều. Thêm nước cất đến vạch và lắc đều. Phức molipđenthioxianat có màu vàng da cam.

Sau 20 phút dung dịch có thể so màu với thang màu tiêu chuẩn trên máy so màu quang điện. Màu ổn định khoảng 4 – 5 giờ.

Nếu như màu của dung dịch phân tích nhận được nhạt thì chuyển toàn bộ lên phễu chiết, thêm 5ml rượu isoamilic, lắc 1 phút. Để cho phễu chiết phân lớp, thu dịch màu rượu isoamilic. Thêm vào phễu chiết 2ml rượu isoamilic và lại chiết. Thu dịch màu.

So màu dịch chiết rượu với thang màu tiêu chuẩn.

Đồng thời chuẩn bị dung dịch mẫu chứa từ 0,1 đến 5μg molipđen trong bình 50ml, lần lượt thêm các thuốc thử như khi phân tích mẫu.

– *Tính kết quả.* Hàm lượng Mo được tính theo công thức sau :

$$X = \frac{aV_o \cdot 1000}{nV_1 \cdot 1000} = \frac{aV_o}{nV_1}$$

X : hàm lượng của Mo (mg/kg – ppm).

a : hàm lượng nguyên tố tìm trên đồ thị (μg).

V_o : thể tích dung dịch ban đầu (ml).

V_1 : thể tích dung dịch lấy phân tích.

n : khối lượng mẫu (g).

– *Hóa chất :*

HCl 20%.

Kali thioxianat 10% hay amonit hioxianat.

NaCl 20%.

HCl (d = 1,16).

Thiourê 1%.

Rượu isoamilic hay butanol.

+ Dung dịch chuẩn gốc : Cân 2,0424g amoni molipđat, hòa tan trong 1 lít nước (1ml chứa 1μg Mo). Từ dung dịch này chuẩn bị dung dịch để cấu tạo thang màu tiêu chuẩn chứa 0,01 μm/ml.

d) Xác định kẽm trong thực vật. Kẽm trong thực vật như một hợp phần kim loại của nhiều men, mà quan trọng nhất là men xúc tác cho phản ứng tổng hợp ARN, tổng hợp protein. Thiếu kẽm thì tổng hợp protein bị ảnh hưởng. Kẽm còn tăng sự hình thành auxin.

Hàm lượng Zn, trong thực vật thay đổi từ 1ppm cho đến mức cao nhất là 10.000ppm (trung bình là từ 20 – 100ppm). Phần cây non thường chứa Zn nhiều hơn phần già, trong lá nhiều hơn trong thân. Phân tích thực vật nếu nồng độ Zn < 15ppm thì cây thiếu kẽm.

Người ta thường sử dụng phương pháp so màu để định lượng Zn (có độ nhạy cao). Để xác định kẽm có thể sử dụng đithizon, 8–oxiquinolin...

– *Nguyên lí phương pháp trắc quang dithizon :* Ion kẽm tạo với thuốc thử hữu cơ một phức màu càng cua ít tan trong nước nhưng dễ tan và tan nhiều trong dung môi hữu cơ (tetrachlorua cacbon, clorofooc), nên người ta xác định kẽm bằng phương pháp trắc quang đithizon. Kẽm được chiết hoàn toàn bằng đithizon trong CCl_4. Xác định Zn với đithizon bị ảnh hưởng bởi các ion có mặt trong dung dịch phân tích như Ni, Co, Cu, Cd, Pb, Fe và các nguyên tố khác. Xianua hay thiosunfat được sử dụng như chất che các cation ảnh hưởng.

Kẽm đithizonat được tạo thành trong môi trường gần trung tính (pH = 5,0 – 5,5) được chiết bằng CCl_4 tiến hành so màu hợp chất phức sau khi đã loại trừ lượng thừa đithizon bằng amoniac.

- *Trình tự phân tích :*

Lấy 10 – 20ml dung dịch (sau khi tro hóa) cho vào phễu chiết. Kiểm tra pH của dung dịch. Nếu dung dịch là axit thì trung hòa bằng NH_4OH 10% (chỉ thị metyl đỏ) đến khi có màu vàng. Tức là đã tạo ra pH thích hợp (pH = 5,0 – 5,5).

Thêm 5ml dung dịch đệm axetat, lắc đều, thêm 1ml dung dịch natrithiosunfat 25% và lại lắc đều.

Sau đó dùng buret cho vào dung dịch trong phễu chiết 10ml dung dịch dithizon mới pha trong CCl_4. Đậy chặt nút phễu chiết và xóc mạnh trong một phút.

Sau khi có sự phân tách trong phễu chiết chất tách có màu được tách sang phễu chiết qua khóa phễu chiết.

Chiết bằng đithizon lặp lại cho đến khi đithizon không thay đổi màu của nó.

Cho phần chiết được trong phễu chiết tác dụng với 20ml dung dịch amoniac (1:200) để loại trừ lượng thừa đithizon (khi phân tích nhiều để tăng tính sản xuất có thể khỏi loại trừ đithizon). Định mức tới vạch mức (25 hay 50ml) bằng CCl_4, lắc đều và so màu ở bước sóng 530nm với kính lọc sáng màu xanh lá cây.

Đồng thời tiến hành với thang màu tiêu chuẩn giống như khi phân tích mẫu

- *Tính kết quả.* Hàm lượng Zn được tính theo công thức sau :

$$X = \frac{aV_o \cdot 1000}{nV_1 \cdot 1000} = \frac{aV_o}{nV_1}$$

X : hàm lượng kẽm (mg/kg chất khô).

a : hàm lượng Zn được tìm thấy trên đồ thị (μg).

V_o : thể tích toàn bộ (ml).

V_1 : thể tích lấy phân tích (ml).

n : khối lượng mẫu (g).

- *Hóa chất :*

Dung dịch NH_4OH 10%.

Dung dịch đệm axetat (pH = 5,0) : 272g natri axetat $CH_3COONa.3H_2O$ hòa tan trong nước cất 2 lần, thêm vào 58ml axit CH_3COOH và đưa thể tích đến 1 lít. Dung dịch đệm phải tinh khiết (không có Zn), nếu có phải chiết bằng đithizon trong phễu chiết, cho đến khi đithizon không thay đổi màu.

Natrithiosunfat 25%.

Đithizon (0,04%) : 40mg đithizon cho vào phễu chiết 250ml, thêm vào 100ml CCl_4, hòa tan đithizon bằng cách xóc mạnh phễu chiết trong thời gian 15 phút. Thêm 100ml dung dịch NH_4OH (0,5ml NH_4OH 25% trên 100ml), lắc 2 phút. Đithizon chuyển vào lớp amoniac nhuộm màu amoniac thành màu vàng da cam. Tách bỏ lớp dung môi hữu cơ CCl_4 và lại thêm vào phễu chiết một phần khác (5 – 10ml) CCl_4, lại lắc hỗn hợp, để phân lớp và tách bỏ CCl_4. Tiếp tục làm như trên cho tới khi dung dịch không biến sang màu xanh. Thêm vào dung dịch amoniac chứa đithizon 2,5ml H_2SO_4 (1:5) lắc đều và 100ml CCl_4 lại lắc đều (dung

dịch có phản ứng axit). Đậy nút phễu chiết, lắc hỗn hợp để chuyển hoàn toàn đithizon sang tướng hữu cơ. Chuyển tướng hữu cơ sang phễu chiết sạch khác, rửa 3 lần mỗi lần 50ml nước cất. Sau đó chứa đithizon đã làm sạch trong lọ thủy tinh màu, bảo quản nơi mát (dung dịch gốc).

Dung dịch đithizon sử dụng được chuẩn bị bằng cách lấy 1 thể tích dung dịch gốc trộn với 1 thể tích CCl_4 sạch (dung dịch bền trong 1 tuần).

Dung dịch chuẩn kẽm : 0,100g kẽm kim loại hòa tan trong bình 1 lít với từng ít một nước cất 2 lần chứa 10ml HCl 20%. Hòa tan hết đưa thể tích đến vạch. Dung dịch này chứa 100μg Zn/1ml (dung dịch gốc). Dung dịch để cấu tạo thang màu tiêu chuẩn được chuẩn bị bằng cách pha loãng dung dịch gốc 100 lần (1 μgZn/1ml).

Chương 4

XÁC ĐỊNH CHẤT LƯỢNG SẢN PHẨM CÂY TRỒNG

1. Xác định nitơ tổng số trong thực vật (phương pháp Kenđan)

Xác định nitơ tổng số trong cây để tính sự mang đi theo năng suất của nguyên tố này từ đất và phân cũng như để đánh giá chất lượng sản phẩm và cân bằng của N. Hợp chất chứa nitơ bao gồm protein và chất không phải protein. Hợp chất không phải protein thường chiếm ít hơn, 10% so với tổng số, ít ở trong hạt. Biết nitơ tổng số có thể chuyển thành hàm lượng "protein thô" bằng cách nhân với 6,25.

– *Nguyên lí phương pháp :* Nguyên liệu thực vật được tro hóa trong bình Kenđan bằng axit H_2SO_4 đặc và có mặt chất xúc tác, kết quả nitơ chuyển toàn bộ thành dạng $(NH_4)_2SO_4$. Cất amoniac bằng phản ứng với NaOH 40% và hấp thu nó (NH_3) bằng H_3BO_3 hay H_2SO_4 có nồng độ tiêu chuẩn.

– *Trình tự phân tích :*

Tro hóa

Cân 0,2g mẫu gói gọn trong miếng giấy lọc không tro để cho gọn vào bình Kenđan (để mẫu khỏi dính vào cổ bình).

Thêm 1g hỗn hợp muối (xúc tác).

Thêm 5ml H_2SO_4 đặc.

Đốt mẫu (tro hóa), điều chỉnh nhiệt để cho dung dịch trong bình không trào lên cổ, thành bình. Đốt cho đến dung dịch trong bình trắng trong.

Để nguội bình, thêm 100ml nước cất lắc đều. Sau khi nguội chuyển toàn bộ sang bình dung tích 500ml để cất.

Cất amoniac (trên Macrokenđan, hình 37)

Lấy 20ml dung dịch H_3BO_3 có hỗn hợp chỉ thị để hấp thu NH_3. Đầu mút ống sinh hàn (ống dẫn NH_3) phải ngập trong dung dịch H_3BO_3.

Thêm 25ml NaOH 10N (40%) để giải phóng NH_3 từ $(NH_4)_2SO_4$.

Cất cho đến khi thể tích được bay hơi gần $\frac{1}{3}$ thì kết thúc. Thử phản ứng dung dịch chảy ra với thuốc thử Nestle để biết quá trình cất đã kết thúc hay chưa.

Chuẩn độ : Xác định nitơ trong bình hấp thu bằng cách chuẩn độ với axit H_2SO_4 tiêu chuẩn 0,05N. Dung dịch chuyển từ màu xanh lá cây sang màu hồng tím.

– *Tính kết quả :* Hàm lượng nitơ được tính bằng % như sau :

$$N\ (\%) = \frac{a \,.\, N \,.\, 0{,}014}{n} \times 100$$

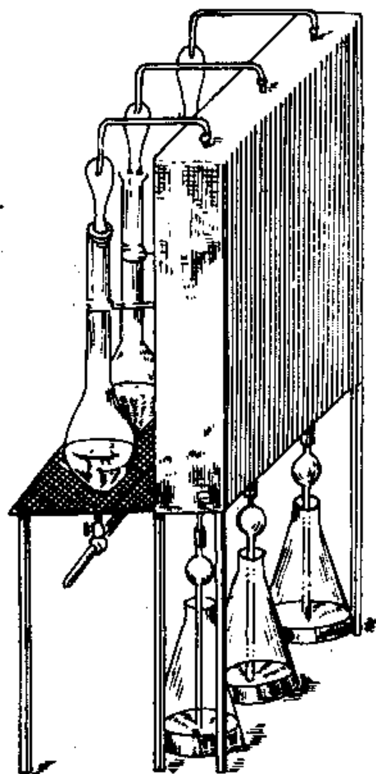
a : số ml H_2SO_4 có nồng độ N tiêu tốn khi chuẩn độ

N : nồng độ của axit H_2SO_4 (0,05 hay 0,02N)

n : khối lượng mẫu

100 : tính ra phần trăm

0,014 : hệ số chuyển từ mgđl thành gam nitơ.



Hình 37 – Cất amoniac

Từ hàm lượng nitơ tổng số có chuyển thành "protein thô" bằng cách nhân với hệ số 6,25

– *Hóa chất :*

Axit H_3BO_3 4% có hỗn hợp chỉ thị (bromocresol xanh và metyl đỏ).

0,099g bromeresol xanh và 0,066g metyl đỏ trong 100ml rượu etilic.

Hỗn hợp muối : 100g K_2SO_4 + 10g $CuSO_4$ và 1g Se.

NaOH 40%.

H_2SO_4 đặc (d = 1,84).

H_2SO_4 hay HCl có nồng độ 0,05N hay 0,02N.

2. Xác định nitơ protein trong thực vật

Phần lớn nitơ của thực vật là nitơ protein. Hàm lượng nitơ protein đánh giá chất lượng sản phẩm và nó thay đổi phụ thuộc vào nhiều nhân tố như đặc điểm sinh học cây, điều kiện khí hậu, đất, chế độ phân bón nhất là phân nitơ. Hàm lượng protein gạo được coi là một tiêu chuẩn gạo xuất khẩu.

Nguyên lí phương pháp : Nguyên tắc xác định nitơ protein dựa trên cơ sở tách và kết tủa nitơ protein, phần nitơ không phải protein hòa tan trong dung dịch được rửa bằng nước hay dung dịch loãng dùng kết tủa. Phần nitơ protein kết tủa được rửa, sấy khô và đốt như khi phân tích nitơ tổng số.

Kết tủa protein từ dung dịch bằng : chì axetat $(CH_3COO)_2Pb$; đồng sunfat : $CuSO_4.5H_2O$; natri sunphosalisilic ; axit tricloaxetic và axit photphovolphramic

a) Xác định nitơ protein theo Barnstein

– Cân 0,3 – 0,5gam mẫu thực vật đã nghiền nhỏ cho vào cốc dung tích 150ml cho tiếp vào đó 50ml nước, trộn đều bằng đũa thủy tinh (để trong cốc cho tới khi cuối phân tích).

Đun cốc chứa nguyên liệu đến khi sôi.

Nguyên liệu giàu tinh bột (lúa gạo, khoai tây, ngô...) thì đun trên bình cách thủy.

Khi cốc nguội, vừa khuấy vừa cho cẩn thận vào cốc 12,5 ml dung dịch $CuSO_4$.

Sau đó thêm vào 12,5ml dung dịch kiềm. Protein sẽ được kết tủa nhanh.

Để yên 1 giờ, lọc qua giấy lọc nhanh.

Rửa kết tủa trên giấy lọc, cốc, đũa nhiều lần. Rửa kết tủa có thể rất khó khi nguyên liệu giàu tinh bột, vì vậy có thể lọc qua phễu Busner, bình Bunzen và bơm hút chân không. Quá trình rửa kết tủa kết thúc khi dịch rửa không có phản ứng với $BaCl_2$ hay kali feroxianua $K_4Fe(CN)_6$. Nghĩa là rửa cho hết phản ứng với Cu^{2+}, đồng thời nitơ hòa tan vắng mặt trên giấy lọc.

Kết tủa sạch sấy khô ở 50 – 60°C trong 1 giờ, sấy để cho giấy lọc tách khỏi phễu.

Gói kết tủa protein cho vào bình Kenđan.

Thêm vào 10 – 20ml H_2SO_4 đặc, nếu lượng axit chưa ngập mẫu thì có thể thêm 5 – 7ml H_2SO_4 đặc.

Thêm hỗn hợp chất xúc tác (0,5 – 1,0g).

Tro hóa mẫu trên bếp điện cho tới khi dung dịch trong bình Kenđan trắng (phụ thuộc nguyên liệu cây có thể 3 – 8 giờ).

b) Xác định nitơ protein với axit trichloaxetic

Cân khoảng 3 – 5g nguyên liệu tươi, hay 0,3 – 0,5g nguyên liệu khô cho vào cốc 150ml.

Thêm 25ml nước cất, trộn đều bằng đũa thủy tinh có đầu bịt bằng cao su.

Đun sôi và khi đang nóng thêm vào 5ml axit tricloaxetic 50%.

Nguyên liệu giàu tinh bột thì đun trên bếp cách thủy 40 – 50°C trong 10 phút.

Để kết tủa yên trong 0,5 – 1 giờ và sau đó lọc qua giấy lọc nhanh bằng cách gạn lọc.

Rửa kết tủa trên giấy lọc bằng những lượng nhỏ axit trichloaxetic 2%, đến khi dung dịch rửa khoảng gần 200ml.

Sấy khô kết tủa ở nhiệt độ 50 – 60°C, để giấy lọc tách khỏi phễu.

Gói gọn kết tủa và cho cẩn thận vào bình Kenđan, thêm vào đó 10 - 15ml H_2SO_4 đặc.

Thêm hỗn hợp chất xúc tác (0,5 - 1g).

Tro hóa mẫu trên bếp điện cho tới khi dung dịch trong bình có màu trắng (xem phần phân tích nitơ tổng số trong cây).

Tính kết quả :

$$N(\%) = \frac{a \cdot N \cdot 0{,}014 \cdot 100}{n}$$

a : số ml axit chuẩn có nồng độ N tiêu tốn khi chuẩn.

0,014 : hệ số chuyển thành gam.

n : khối lượng mẫu lấy phân tích.

100 : tính ra %.

– *Hệ số chuyển nitơ thành protein :* Hàm lượng nitơ trong protein thực vật phụ thuộc vào thành phần amino - axit (càng lớn trong protein nhiều các axit amin là điamincacboxilic axit). Hàm lượng tổng số của nitơ trong protein được thay đổi trong khoảng từ 15 - 19% (trung bình là 16%). Khi tính protein bằng % thì nhân với hệ số 6,25 (100 : 16 = 6,25). Khi tính protein trong cơ quan sinh dưỡng của lúa mì, bông, lúa, đậu tương thì hệ số đó là 5,70 ; 5,30 ; 5,95 và 5,71 và ở lạc là 5,46.

– *Tính nitơ phi protein :* Nitơ phi protein có thể tiến hành bằng hai cách : bằng cách tính và cách phân tích trực tiếp. Nitơ phi protein là hiệu số giữa nitơ protein và nitơ tổng số. Khi phân tích tiến hành xác định trực tiếp dịch chiết đã tách protein (theo phương pháp Barnstein), phương pháp Bectran hay phương pháp Pleskop.

Khi phân tích nitơ phi protein trong dịch chiết bằng nước thì độ chính xác nhỏ (có thể có cả dạng NH_3 và NO_3^-)

– *Chọn khối lượng mẫu để phân tích* . Xác định nitơ protein có thể từ mẫu tươi, khô không khí và khô tuyệt đối. Phân tích hạt thì cân 0,2 - 0,3g, còn cơ quan sinh dưỡng ở trạng thái khô không khí thì cân 0,5g.

Khi phân tích củ, rễ, lá, thân ở trạng thái tươi thì trước tiên nghiền nhỏ, lấy khối lượng 5 - 7g.

Khi cân mẫu khô tán nhỏ, mẫu tươi dính, có thể cân trước giấy lọc làm bao bì, sau đó cân bì và mẫu. Hiệu số giữa 2 lần cân chính là khối lượng mẫu.

Phân tích mẫu tươi, hay khô không khí cần phải cân để xác định độ ẩm(3 - 5g).

– *Hóa chất :*

$CuSO_4.5H_2O$: 60g muối hòa tan trong 1 lít nước cất đưa thể tích đến 1 lít.

NaOH 12,5gam kiềm hòa tan trong 1 lít nước cất.

$K_4Fe(CN)_6$: Cân 2 gam muối hòa tan bằng nước cất và đưa thể tích đến 100 ml.

Dung dịch CCl_3COOH 50% và 2%.

Hỗn hợp chất xúc tác (xem bài phân tích nitơ tổng số).

H_3BO_3 4% (xem bài phân tích nitơ tổng số).

Chỉ thị màu (xem bài phân tích nitơ tổng số).

H_2SO_4 đặc.

3. Xác định tinh bột bằng thủy phân axit

Tinh bột là hợp chất cao phân tử, không hòa tan trong nước, tạo ra dung dịch keo dính, khả năng dính kết khác nhau theo thành phần và số lượng hợp chất. Hợp chất này là nguồn năng lượng quan trọng trong quá trình trao đổi chất ở cây, trong dinh dưỡng của người và động vật, trong hàng loạt lĩnh vực công nghiệp.

Trong hạt, củ giàu tinh bột (hạt hòa thảo 50 - 80%). Tinh bột không phải là chất hóa học riêng biệt mà trong thành phần có chất khoáng (chủ yếu photpho) và axit béo. Tỉ khối tinh bột trung bình 1,5, phản ứng nhạy của tinh bột với iot tạo thành màu xanh. Tinh bột bao gồm 2 polisaccarit khác nhau về cấu tạo và tính chất : amilozơ và amilopectin.

Nguyên tắc xác định tinh bột trước hết phải thủy phân (bằng axit hay bằng men) đến các glucozơ. Đường glucozơ được xác định theo phương pháp Bectran, hay phương pháp phân cực. Phương pháp Bectran để xác định tinh bột trong lá, thân và rễ nghĩa là chất tách có mang màu (sắc tố), còn phương pháp phân cực xác định glucozơ trong chất chiết không màu.

- Trình tự phân tích :

Cân 1g nguyên liệu thực vật cho vào bình khô 300ml.

Thêm vào 150ml HCl 1%, lắc đều, đậy bằng nút có hệ thống sinh hàn.

Thủy phân trong bình cách thủy, trong thời gian 3 giờ.

Đồng thời đặt trong bình cách thủy bình tam giác không có mẫu chứa 150ml axit HCl 1% để kiểm tra.

Sau 2 - 3 giờ thủy phân để kiểm tra lấy 1 ít dịch nghiên cứu cho vào mặt kính đồng hồ, nhỏ vào 1 giọt iôt. Sự thủy phân kết thúc nếu như không có màu xanh.

Thêm 2 - 3 giọt metyl đỏ vào bình kiểm tra (không có mẫu) trung hòa từ Buret bằng dung dịch NaOH 20%, còn bình thí nghiệm (có mẫu) thì cũng trung hòa với số lượng tương đương của kiềm nhưng không có chỉ thị. Lượng kiềm không được thừa vì trong môi trường kiềm đường bị phân giải.

Kết tủa protein bằng cách thêm vào bình 1ml $(CH_3COO)_2$ Pb 10% và lắc đều. Thêm 1 - 2 giọt chì axetat theo thành bình nếu thấy đục thì protein kết tủa chưa hết. Thêm tiếp từng giọt chì axetat.

Sau 0,5 - 1 giờ để kết tủa hoàn toàn, thêm vào bình dung dịch Na_2SO_4 với thể tích gấp 4 lần thể tích chì axetat (2 - 4ml) để loại trừ lượng chì thừa.

Để dung dịch và kết tủa qua đêm, lọc qua giấy lọc nhanh vào bình định mức 200ml, rửa bình, kết tủa trên giấy lọc 4 - 5 lần bằng nước, định mức tới vạch, lắc đều. Dung dịch để xác định monosaccarit theo Bectran.

– *Tách đường hòa tan bằng nước hay bằng rượu* . Khi phân tích tinh bột có đường hòa tan chứa trong mẫu. Vì vậy cần thiết xác định đường hòa tan riêng trong mẫu hay trước khi xác định tinh bột phải tách đường hòa tan bằng H_2O hay rượu.

Cân 5 – 10 gam mẫu thêm vào 100 – 200ml (1/20) nước nóng, đun cách thủy 80^oC nửa giờ để tách đường hòa tan. Để nguội và lọc.

Tách lần thứ hai với thời gian đun cách thủy 15 phút, lọc.

Phần mẫu đã rửa sạch dùng để xác định tinh bột.

Mẫu thực vật giàu tinh bột (khoai tây, ngô, lúa gạo) thì tách đường hòa tan bằng rượu, vì dịch chiết tách bằng nước rất khó lọc. Tách mẫu bằng rượu nóng 90%, tách 2 lần liên tiếp (tỉ lệ mẫu : rượu = 1/8) Phần dung dịch có thể sử dụng xác định đường theo Bectran :

– *Tính kết quả :*

$$\text{Tinh bột (\%)} = \left[\left(a + \frac{b}{2 \cdot 10}\right) - b\right] \cdot 0{,}9$$

a : lượng tổng số glucozơ, % sau khi thủy phân.

b : hàm lượng đường hòa tan, % trước thủy phân .

$\left(\frac{b}{2 \cdot 10}\right)$: hệ số hiệu chỉnh cho phân hủy fructozơ.

0,9 : hệ số chuyển thành tinh bột.

– *Hóa chất :*

HCl 1%.

Dung dịch iôt.

NaOH 10%.

Phenolphtalein.

Các thuốc thử dùng để xác định glucozơ theo Bectran.

4. Xác định tinh bột trong hạt (theo Evecs)

Phương pháp phân cực kế xác định tinh bột trong hạt nhanh hơn phương pháp đã trình bày và được sử dụng phổ biến trong thời gian gần đây để đánh giá chất lượng nông sản.

– *Nguyên lí phương pháp :* Nguyên tắc phương pháp bao gồm thủy phân tinh bột bằng axit yếu, xác định góc quay của dịch thủy phân trên phân cực kế. Sự quay riêng của dịch thủy phân $[\alpha]_D$ từ hạt của các cây trồng khác nhau trung bình bằng 181. Để chính xác hơn cần xác định riêng cho các cây trồng. Hạt nghiền nhỏ bằng cối, rây qua rây 1mm. Cám được nghiền cẩn thận và trộn lẫn bột nếu xác định tinh bột tiến hành trong hạt nguyên vẹn. Cám có thể bỏ khi xác định tinh bột chỉ trong nội nhũ.

– *Trình tự phân tích :*

Cân 2,5 gam bột cho qua phễu khô vào bình định mức 100 ml.

Thêm vào 25ml HCl 1% cho tất cả thấm ướt axit. Không được để bột dính chặt vào thành bình.

Lại thêm 25 ml axit và đặt lên bếp cách thủy.

Thủy phân 15 phút trên nồi cách thủy sôi và thường xuyên lắc, đầu tiên hỗn hợp trong bình quánh đặc do keo hóa tinh bột, sau đó loãng ra.

Để nguội bình đến nhiệt độ phòng, thêm vào đó 30 ml nước cất, lắc đều.

Kết tủa protein trong dung dịch bằng 5 ml dung dịch axit photphovolphramic, lắc đều định mức bằng axit HCl 1% đến vạch.

Lọc dịch thủy phân qua giấy lọc nhanh.

Xác định góc quay trên phân cực kế.

– *Tính kết quả :* Tính hàm lượng tinh bột (%) theo công thức sau :

$$K = \frac{a \cdot 0{,}3468 \cdot V \cdot 100}{181 \cdot l \cdot n}$$

K : hàm lượng tinh bột (%)

a : góc quay được đọc trên phân cực kế (độ)

0,3468 : hệ số chuyển thành độ của thang tròn

V : thể tích của dịch thủy phân (ml)

181 : yếu tố đối với tinh bột tương ứng với $[\alpha]_D$

l : độ dài của ống (dm)

n : khối lượng mẫu (g)

– *Hóa chất :*

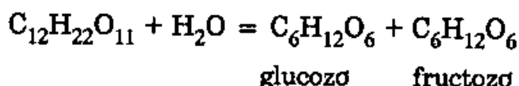
HCl 1%.

Dung dịch photphovolphramic axit 5%.

5. Xác định mono, đisaccarit và tổng số hiđratcacbon hòa tan trong cùng một mẫu theo Bectran

Mono, đisaccarit và các hiđratcacbon hòa tan khác là những hợp chất đơn giản của hiđratcacbon. Chúng có ý nghĩa lớn đối với thực vật và động vật như nguyên liệu chứa năng lượng cơ bản cho tế bào và mô hoạt động. Xác định hợp chất hiđratcacbon có thể bằng phương pháp hóa học, quang học, sinh học và sắc kí.

– *Nguyên lí phương pháp Bectran.* Phương pháp này dựa trên cơ sở là monosaccarit (glucozơ, fructozơ) chứa nhóm anđehyt và xeton khử dung dịch feling. Dịch feling là hỗn hợp dung dịch kiềm muối Seinhet và $CuSO_4$. Đồng thời đường bị oxi hóa tới axit và Cu^{2+} bị khử đến Cu^{+}. Khi tạo thành polisaccarit thì phân tử monosaccarit mất nhóm CHO và CO vì vậy không có khả năng khử và chỉ sau khi thủy phân tạo thành đường đơn mới có khả năng khử dung dịch feling.

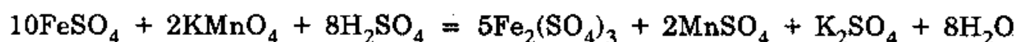


$$C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O = C_6H_{12}O_6 + C_6H_{12}O_6$$

glucozơ fructozơ

$C_6H_{12}O_6$ + Dung dịch feling = axit gluconic + muối seinhet + Cu_2O ↓

Xác định kết tủa Cu_2O bằng phương pháp thể tích, trước tiên hòa tan kết tủa bằng H_2SO_4 và muối Fe (hóa trị 3). $Cu_2O + Fe_2(SO_4)_3 + H_2SO_4 = 2CuSO_4 + 2FeSO_4 + H_2O$. Khi hòa tan thì $Cu^+ \rightarrow Cu^{2+}$ và $Fe^{3+} \rightarrow Fe^{2+}$. Sắt hóa trị 2 tạo thành được chuẩn độ bằng dung dịch $KMnO_4$



$$10FeSO_4 + 2KMnO_4 + 8H_2SO_4 = 5Fe_2(SO_4)_3 + 2MnSO_4 + K_2SO_4 + 8H_2O$$

Theo lượng $KMnO_4$ tiêu tốn khi chuẩn độ suy ra lượng Fe^{2+} và lượng Fe^{2+} tương đương với lượng kết tủa Cu_2O, nghĩa là lượng kết tủa Cu_2O càng lớn thì lượng đường khử càng nhiều.

- *Trình tự phân tích :*

Cân 1g mẫu cho vào cốc 150 - 200ml.

Thêm 125ml nước cất và đặt lên bếp cách thủy đã đun nóng trước đến 90°C.

Tách hiđratcacbon trong thời gian 30 phút ở 80°C.

Để nguội và thêm 0,5 ml dung dịch Pb axetat 4% để kết tủa protein (thêm từ từ từng giọt và lắc đều bình).

Lọc vào bình định mức 200 ml và rửa kết tủa trên giấy lọc.

Lượng thừa chì axetat được kết tủa bằng dung dịch Na_2SO_4 với lượng gấp 3 lần lượng $(CH_3COO)_2Pb$.

Để qua đêm cho kết tủa $PbSO_4$ lắng xuống. Kết tủa đã hoàn toàn khi thêm 1 - 2 giọt Na_2SO_4 vào dịch trong không còn vẩn đục.

Sau khi kết tủa xong Pb^{2+}, thêm nước tới vạch và lọc (dung dịch lọc I). Trong dung dịch lọc I xác định nitơ protein tổng số saccarit và monosaccarit.

Lấy 50 ml dịch lọc I cho vào bình định mức, thêm vào 5 ml HCl đặc, đặt trên bếp cách thủy đã đun trước đến 80°C. Thủy phân disaccarit tiến hành ở nhiệt độ 68 - 70°C trong thời gian 5 phút. Để nguội và trung hòa theo chỉ thị màu phenolphtalein bằng xođa đến khi xuất hiện màu hồng. Định mức đến vạch lắc đều (dịch lọc II), đậy nút bình, để qua 1 - 2 giờ (Có thể qua đêm) .

Trong bình tam giác chứa 20 ml dung dịch $CuSO_4$ và 20 ml dung dịch seinhet thêm vào đó 20 ml dung dịch xác định đường, lắc đều và đặt trên bếp điện để sôi 3 phút.

Lọc dung dịch ở trạng thái đang nóng vào bình Bunzen có bơm hút chân không.

Rửa kết tủa trên phễu lọc 7 - 8 lần bằng H_2O cất nóng, không để kết tủa tiếp xúc với không khí.

Chuyển kết tủa vào bình sạch (kết tủa cần phủ 1 - 2 mm lớp nước) hòa tan kết tủa bằng dung dịch phèn sắt (Fe^{3+}) (khoảng 15 - 20ml), sau khi kết tủa hòa tan hoàn toàn rửa bằng một ít nước cất nóng.

Dung dịch trong bình chuẩn độ bằng $KMnO_4$ 0,02 - 0,05N đến màu hồng nhạt.

- *Tính kết quả.* Phản ứng hòa tan Cu_2O và phản ứng chuẩn độ Fe^{2+} bằng $KMnO_4$ đã cho thấy rằng 5 Cu tương ứng 1 $KMnO_4$ vì vậy :

1 ml $KMnO_4$ 0,1 N tương đương với 635,7 mgCu

a ml $KMnO_4$ 0,1N tương đương với x mg Cu

Từ đó có : $$x = \frac{a \cdot N_{KMnO_4} \cdot 635,7}{0,1}$$

Theo bảng Bectran (xem phụ lục bảng 9) tìm x mg Cu tương đương A mg glucozơ. Hàm lượng hiđratcacbon (%) được tính theo công thức sau :

$$C_G = \frac{A \cdot p \cdot 100}{n \cdot 1000}$$

n : khối lượng chất khô không khí (g).

A : lượng glucozơ theo bảng (mg).

p : hệ số pha loãng.

– *Hóa chất :*

$(CH_3COO)_2Pb$ 4%.

Na_2SO_4 10%.

HCl đặc (1,12).

Dung dịch phenolphtalein 1%.

Xođa $Na_2CO_3.10H_2O$

Dung dịch $CuSO_4$ 4%

Dung dịch kiềm muối seinhet ($C_4H_4O_6KNa.4H_2O$). Cân 200g muối cho vào bình 1l, hòa tan bằng nước, thêm vào đó 150g KOH hay NaOH đưa thể tích đến vạch, lắc đều, lọc.

Dung dịch phèn sắt amoni được axit hóa. Cân 81g $(NH_4)_2SO_4.Fe_2(SO_4)_3.4H_2O$ cho vào bình định mức 1 lít, hòa tan bằng nước (300–500ml), rót cẩn thận vào đó 108,7ml H_2SO_4 đặc (d = 1,84) định mức tới vạch và lắc đều. Có thể dùng 50g $Fe_2(SO_4)_3.nH_2O$ thay thế.

Dung dịch $KMnO_4$ 0,02N.

Chuẩn bị phễu Busner, bình Bunzen

Đường đisaccarit được xác định sau 5 phút thủy phân tính theo công thức :

$$A = (B - C) \cdot 0,95$$

A : đường đisaccarit (%) ; B : tổng saccarozơ (%)

C : monosaccarit (%) ; hệ số 0,95 chỉ ra rằng khi thủy phân một phân tử saccarozơ được tạo thành 0,95 phân tử glucozơ.

Xác định saccarozơ bằng phân cực kế

– *Trình tự phân tích :*

Cân 25g nguyên liệu đã nghiền nhỏ cho vào bình cao cổ 200ml, dùng nước chuyển dần và cuối cùng đưa đến thể tích 150ml.

Đặt bình trên bếp cách thủy ở 80°C đun 30 phút, lắc thường xuyên để chiết đường.

Để nguội và thêm vào bình vài giọt ête.

Thêm nước cất gần đến vạch và tiếp tục chiết đường thêm 15 phút.

Để nguội và thêm 7ml dung dịch chì axetat 10% để kết tủa protein, lắc đều để yên 0,5 – 1 giờ.

Định mức tới vạch, lắc đều, lọc vào bình khô qua giấy lọc dày, phần đầu đục bỏ đi.

Rót dung dịch lọc vào ống phân cực kế, sau đó theo thang 5 số đọc kết quả. Chỉ số trung bình được sử dụng để tính.

– *Tính kết quả trên phân cực kế :*

$$\text{saccarozơ (\%)} = \frac{a \cdot p \cdot 0{,}75 \cdot 0{,}9925 \cdot 100}{n}$$

a : số bằng độ theo thang.

0,75 : lượng saccarozơ tương đương với 1° của thang dụng cụ (g).

0,9925 : hiệu chỉnh thể tích nếu như tiến hành trong bình định mức mà không phải trong bình Schift.

n : khối lượng mẫu.

p : số pha loãng (200/100).

6. Xác định độ axit tổng số của rau quả

Hàm lượng axit hữu cơ luôn luôn có trong rau quả tươi, có ý nghĩa quan trọng khi sử dụng chúng ngay hay khi bảo quản, chế biến.

– *Nguyên lí phương pháp :* Axit hữu cơ được tách từ nguyên liệu đã nghiền nhỏ bằng cách đun 30 phút mẫu với nước cất trên bếp cách thủy 80°C. Sau đó chuẩn dịch chiết bằng dung dịch kiềm 0,1N sẽ xác định được lượng tổng số của độ axit.

– *Trình tự phân tích :* Cân 25g mẫu tươi cho vào cối nghiền nhỏ, trộn đều.

Dùng nước cất chuyển mẫu và tráng cối cho hỗn hợp vào bình định mức 200 ml.

Đưa thể tích dịch lỏng trong bình đến 150 ml đặt bình vào nồi cách thủy ở nhiệt độ 80°C và đun 5 phút.

Để nguội hỗn hợp trong bình, định mức bằng nước cất đến vạch, lắc đều.

Lọc qua giấy lọc trung bình

Lấy 50 ml dung dịch lọc cho vào cốc hay bình tam giác 250ml.

Chuẩn độ bằng NaOH hay KOH 0,1N

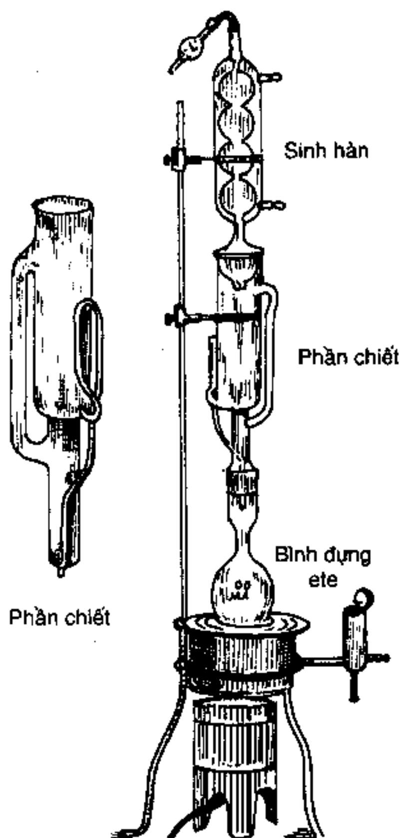
Bởi vì dịch lọc thường có màu, nên khi chuẩn độ không dùng chất chỉ thị và điểm cuối của phép chuẩn độ được xác định như sau : Người ta nhỏ một giọt nước cất vào giấy quỳ xanh và sau đó, nhỏ 1 giọt dung dịch từ bình đã chuẩn độ. Nếu như giấy quỳ không chuyển sang màu đỏ thì sự chuẩn độ coi như đã kết thúc. Thực tế sự chuẩn độ coi như kết thúc khi không có sự khác nhau rõ về màu của hai giọt nước và dung dịch thí nghiệm.

– *Tính kết quả :* Nhân số kiềm tiêu tốn khi chuẩn với hiệu chỉnh độ chuẩn kiềm và với hệ số 0,0067 sẽ tìm được hàm lượng axit hòa tan trong mẫu lấy phân tích.

Để biểu diễn độ chua ra % cần thiết kết quả trên nhân với 20 (để chuyển từ 50 ml dịch lọc tương đương 5g mẫu thành 1000 ml tương đương 100g mẫu).

7. Xác định mỡ tổng số

Mỡ và lipit (chất giống mỡ) chứa trong cây thực hiện hàng loạt các chức năng quan trọng. Lớp màng trên bề mặt tế bào cấu tạo từ mỡ và lipoproteit. Cây trồng khác nhau thì có hàm lượng mỡ cũng khác nhau. Hàm lượng mỡ trong hạt của cây ngũ cốc thấp 2 – 3%, cây có dầu chứa mỡ nhiều nhất : đậu tương 20 – 30%, hướng dương 30 – 50%. Mỡ thực vật là sản phẩm có giá trị cho dinh dưỡng của người và động vật. Thông thường mỡ tổng số được xác định bằng phương pháp chiết trong dụng cụ Soxlet.



Hình 38 – Dụng cụ chiết mỡ Soxlet

– *Nguyên lí phương pháp* : Phương pháp xác định dựa trên cơ sở mỡ trong nguyên liệu thực vật được chiết bằng dung môi hữu cơ (ête). Tính sự chênh lệch trọng lượng mẫu trước và sau khi chiết mỡ chính là hàm lượng mỡ trong nguyên liệu. Nguyên liệu cần nghiền nhỏ.

– *Trình tự phân tích* :

Cân 10g mẫu (có lượng mỡ nghèo – trung bình) hay 1 – 3g mẫu (giàu mỡ) để xác định mỡ. Đồng thời lấy một lượng mẫu để xác định độ ẩm của nguyên liệu.

Gói nguyên liệu thành gói hình trụ bằng giấy lọc.

Sấy bộ phận bình chứa của Soxlet đến khối lượng không đổi, cân trên cân phân tích (ghi khối lượng bình).

Đổ một lượng ête bằng 2/3 – 3/4 thể tích bình chứa.

Lắp phần chiết đựng gói mẫu phân tích và ống sinh hàn vào bình chứa có ête. Đó là các phần của dụng cụ chiết mỡ Soxlet (hình 38.).

Đặt Soxlet vào nồi cách thủy.

Chiết mỡ trong điều kiện đun cách thủy, giữ ở mức nhiệt độ từ 40 – 50°C. Khi sôi hơi ête bốc lên gặp lạnh thành nước làm ngập gói mẫu tách mỡ rơi xuống bình chứa. Quá trình đó xảy ra liên tục để tách mỡ trong mẫu.

Chiết mỡ trong thời gian 4 – 6 giờ với nguyên liệu chứa ít mỡ và 5 – 8 giờ với nguyên liệu giàu mỡ.

Khi chiết kết thúc, tháo bình chứa ête và mỡ hòa tan khỏi phần chiết và ống sinh hàn.

Lắp vào bình chứa (có ête và mỡ hòa tan) ống sinh hàn để cất ête đun cách thủy ở nhiệt độ 50 – 60°C.

Khi cất hết ête, sấy bình chứa ở nhiệt độ 70°C đến khối lượng không đổi (cân và ghi khối lượng).

- *Tính kết quả.* Hàm lượng mỡ tính theo công thức sau :

$$X = \frac{a \cdot 100}{n(100 - y)}$$

x : hàm lượng mỡ thô trong mẫu (%).

a : khối lượng mỡ (g).

n : khối lượng mẫu.

y : hàm lượng nước trong mẫu (%).

a) Xác định mỡ theo khối lượng còn lại sau khi chiết

Phương pháp này được sử dụng rộng rãi khi phân tích nhiều, có độ chính xác đảm bảo và có tính sản xuất cao.

- *Trình tự phân tích :*

Cân 1g mẫu thực vật nghiền nhỏ, gói thành gói, sấy ở 105°C đến khối lượng không đổi (ghi khối lượng).

Cho gói vào bình lớn, có nút nhám (có thể cùng một lúc 10 - 12 gói).

Rót ête hay benzin vào bình (ngập mẫu), đậy nút và lắc để chiết mỡ, để vài giờ, rót bỏ ête đã hòa tan mỡ. Rót thêm phần mới ête ngập mẫu, lắc chiết mỡ tiếp. Làm như thế khoảng 3 lần với thời gian 2 ngày đêm.

Sau đó cho gói vào dụng cụ Soxlet, chiết thêm 2 - 3 giờ như phương pháp đã mô tả trên.

Sau khi chiết sấy gói ở 100 - 105°C đến khối lượng không đổi (2 - 3 giờ) và cân khối lượng mẫu (ghi kết quả).

- *Tính kết quả.* Lượng mỡ thô được tính theo hiệu số khối lượng trước và sau khi chiết. Hàm lượng % mỡ tính theo công thức sau :

$$X = \frac{a \cdot 100}{n}$$

X : hàm lượng mỡ thô trong nguyên liệu phân tích (%).

a : khối lượng mỡ thô trong mẫu (g).

n : khối lượng mẫu lấy phân tích.

b) Xác định chỉ số axit. Hầu như trong mỡ bao giờ cũng có một lượng nhỏ axit tự do. Chỉ số axit là số lượng (mg) kiềm cần thiết để trung hòa axit tự do (g), giá trị này không ổn định, thường giảm khi hạt chín và tăng khi hạt nảy mầm cũng như khi bảo quản lâu ngày hạt cây có dầu. Mỡ thực vật chứa axit tự do lớn hơn mỡ động vật.

- *Nguyên lí phương pháp.* Dầu thực vật hòa tan trong hỗn hợp rượu etilic và ête ở nhiệt độ phòng, chuẩn độ nhanh bằng dung dịch KOH 0,1N với chỉ thị màu phenolphtalein, còn mỡ có màu thì theo chỉ thị thimolphtalein.

- *Trình tự phân tích :*

Cân trên cân phân tích 1 - 5g mẫu cho vào bình 100 ml.

Thêm vào 50 ml hỗn hợp trung tính rượu etilic và ête (1 : 2).

Lắc nhẹ để hòa tan dầu, nếu như trong trường hợp dầu hòa tan tồi thì đặt trên bếp cách thủy đun nhẹ và lắc.

Để nguội đến nhiệt độ phòng, thêm 5 giọt phenolphtalein, còn khi dịch có màu tối khó quan sát chuyển màu thì thêm vài giọt thimolphtalein.

Lắc và chuẩn độ nhanh bằng KOH 0,1N đến màu hồng (phenolphtalein) và xanh da trời (thimolphtalein).

– *Tính kết quả.* Tính chỉ số axit theo công thức :

$$X = \frac{a \cdot 56,11 \cdot 100}{n \cdot 1000}$$

X : chỉ số axit

a : thể tích kiềm tốn khi chuẩn (ml)

n : khối lượng dầu (g).

56,11 : đương lượng KOH.

Phần trăm axit béo tự do bằng chỉ số axit nhân với 0,503 (0,503 là hệ số chuyển, chỉ mối quan hệ khối lượng phân tử axit ôleic với khối lượng phân tử KOH 56,11).

– *Hóa chất :*

Hỗn hợp trung tính ête và rượu etilic : 2 thể tích ête hỗn hợp với 1 thể tích rượu etilic 95% lắc đều. Thêm vào hỗn hợp vài giọt chỉ thị trung hòa bằng NaOH 0,1N.

Dung dịch phenolphtalein.

c) Xác định chỉ số xà phòng. Chỉ số xà phòng chỉ ra bao nhiêu miligam KOH cần thiết để trung hòa axit tự do và axit liên kết chứa trong 1g mỡ. Chỉ số xà phòng tính lượng tổng số của axit có trong thành phần của dầu, cũng như giá trị trung bình của khối lượng phân tử, các axit đó. Chỉ số này thay đổi trong khoảng 160 – 270.

– *Nguyên lí phương pháp :* Hòa tan một lượng mỡ nhất định bằng dung dịch kiềm tiêu chuẩn dư thừa ở điều kiện đun cách thủy. Mỡ bị thủy phân thành glixerin và axit béo. Sau đó axit béo được trung hòa bằng kiềm. Phần kiềm còn lại không liên kết vào phản ứng được chuẩn bằng HCl với chỉ thị phenolphtalein.

– *Trình tự phân tích :*

Cân 1 – 3gam dầu cho vào bình cầu 100 ml.

Thêm 25 ml KOH 0,5N vào bình có từ 1 – 2g mẫu và 50 ml KOH 0,5N vào bình có từ 2 – 3 g mẫu.

Đậy bình bằng ống sinh hàn, đun trên bếp cách thủy, lắc thường xuyên để thu nhận dịch trong suốt (thời gian 0,5 – 1 giờ).

Mẫu đối chứng : Lấy bình cầu như trên thêm 2 ml nước cất, 25 ml KOH và đặt trên bếp cách thủy. Khi trong nguyên liệu có sáp và nhựa thì thêm với thể tích như vậy một trong các dung môi (toluen, đimetylbenzen) để nâng cao nhiệt độ sôi và thời gian sôi tăng lên 2 giờ. Nếu trong nguyên liệu chứa nhiều chất không phải xà phòng thì khó thu nhận được dung dịch trong.

Chuẩn dung dịch đang nóng bằng HCl 0,5N với chỉ thị phenolphtalein hay thymolphtalein (khi dịch có màu).

– *Tính kết quả :* Kết quả được tính theo công thức sau :

$$X = \frac{(N_1 y - N_2 q)56,11}{n}$$

X : chỉ số xà phòng hóa (mg KOH).

N_1 : nồng độ của KOH.

N_2 : nồng độ của HCl.

y : thể tích kiềm rót vào bình (ml).

q : thể tích axit được xác định theo hiệu số độ chuẩn của dung dịch của bình đối chứng và thí nghiệm (ml).

n : khối lượng mẫu.

56,11 : đương lượng KOH.

– *Hóa chất.* Dung dịch rượu, kiềm : Hòa tan 30g KOH trong thể tích nước ít nhất (20 ml), sau đó thêm khoảng 1gam bari hiđroxit để kết tủa cacbonat, thêm rượu tinh khiết đến thể tích 1 lít. Để dung dịch qua ngày. Trong trường hợp xuất hiện kết tủa, lọc và bảo quản trong lọ thủy tinh màu tối.

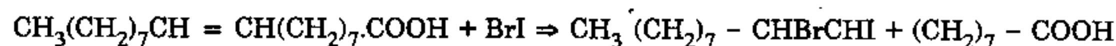
Làm sạch rượu khỏi alđehit bằng cách thêm một số lượng nhỏ tinh thể $KMnO_4$, lắc đều, để qua đêm và cất rượu trên bình cách thủy.

Dung dịch rượu + kiềm không nên để lâu.

d) Xác định chỉ số iôt theo Ganyc. Chỉ số iôt chỉ số gam iot có thể liên kết với 100g mỡ hay dầu. Chỉ số iôt trong dầu khác nhau thay đổi từ 30 – 170. Xác định chỉ số này liên quan với khả năng axit không bão hòa liên kết hai nguyên tử iôt theo chỗ bị đứt của liên kết kép. Khả năng mỡ bị oxi hóa tăng với việc tăng chỉ số iôt.

– *Nguyên lí phương pháp.* Người ta biết rằng iôt từ dung dịch được liên kết theo vị trí đứt của liên kết kép trong axit béo không bão hòa. Tuy nhiên iôt ở nhiệt độ thường phản ứng với dầu vô cùng chậm, còn khi đun thì sự liên kết của nó xảy ra không như nhau. Phản ứng nhanh hơn với mỡ là dẫn xuất ClI (theo phương pháp Giubliu) và BrI (theo phương pháp Ganyc).

Phản ứng với axit oleic như sau :



$$CH_3(CH_2)_7CH = CH(CH_2)_7.COOH + BrI \Rightarrow CH_3(CH_2)_7 - CHBrCHI + (CH_2)_7 - COOH$$

Phần còn lại của BrI tác dụng với KI xảy ra như sau :



$$BrI + KI \approx KBr + I_2$$

Lượng thừa I_2 không tham gia vào phản ứng được xác định bằng phép chuẩn độ với dung dịch hiposunfitnatri có nồng độ tiêu chuẩn.

– *Trình tự phân tích :*

Lấy 0,2 – 1,0g dầu cho vào ống nghiệm nhỏ đáy phẳng.

Ống nghiệm đựng dầu được cặp đặt vào đáy của bình tam giác khô sạch (600 ml) có nút nhám.

Rót cẩn thận vào trọng lượng dầu 10ml clorofooc.

Lắc ngược ống nghiệm hòa tan dầu bằng chuyển động quay vòng.

Nếu như dầu không bị hòa tan và hỗn hợp đục thì thêm một phần mới clorofooc

Thêm vào bình chính xác 25ml dung dịch Ganyc. Thấm ướt nút bằng dung dịch KI để đậy chặt bình tránh mất I_2.

Lắc cẩn thận hỗn hợp phản ứng, đặt trong tối 1 giờ ở nhiệt độ 26 – 30°C hay 2 giờ ở nhiệt độ phòng. Đồng thời tiến hành xác định kiểm tra hỗn hợp phản ứng.

Trong bình kiểm tra chứa 10ml clorofooc, 25 ml dung dịch Ganyc, lắc đều và cũng giữ ở nơi tối.

Khi phản ứng kết thúc thêm vào bình đối chứng và bình thí nghiệm 10 ml dung dịch KI 2%, thấm ướt nút bằng dung dịch này để đậy chặt.

Thêm 50 ml nước cất và chuẩn lượng thừa iôt bằng dung dịch hiposunfit 0,1N đến màu vàng.

Sau đó thêm 1 ml dung dịch hồ tinh bột 1%.

Lắc đều, chuẩn chậm đến khi mất màu xanh.

Nếu clorofooc không tinh khiết, iôt chuyển vào dung dịch chậm, chuẩn độ kéo dài, kết quả không chính xác.

– *Tính kết quả :*

$$X = \frac{(a - b) . N . 126,9 . 100}{n}$$

X : chỉ số iôt (g).

a : thể tích hiposunfit tiêu tốn khi chuẩn độ mẫu (ml).

b : thể tích hiposunfit tốn khi chuẩn độ đối chứng (ml).

N : nồng độ của hiposunfit .

126,9 : khối lượng nguyên tử của iôt (g).

n : khối lượng mẫu.

– *Hóa chất :*

Dung dịch Ganyc (BrI). hòa tan 13g iôt trong 100 ml axit axetic băng, sau đó thêm 8,2g Br_2. Br_2 không được thừa vì nó làm tăng phản ứng thế. Định mức dung dịch bằng axetic băng đến vạch.

Clorofooc (thường bị bẩn do nước, rượu, ête, axeton)

Dung dịch hiposunfit : Độ chuẩn của hiposunfit được xác định theo $K_2Cr_2O_7$ đã kết tinh lại hai lần và sấy khô ở 130°C.

Dung dịch hồ tinh bột 1% pha trong dung dịch NaCl bão hòa.

8. Xác định vitamin

Vitamin là nhóm hợp chất hữu cơ phân tử thấp, có thể chứa hiđratcacbon, rượu, axit, về thành phần hóa học rất đa dạng, chúng rất cần thiết đối với đời sống con người và động vật. Thiếu vitamin trong thức ăn có thể gây ra một số bệnh liên quan

đến trao đổi chất (vitamin C), bại liệt hệ thống thần kinh (vitamin B_1). Trong cây vitamin thực hiện vai trò chất xúc tác sinh học, và là nguồn dự trữ tự nhiên về vitamin cho con người. Rau ăn lá là nguồn cung cấp vitamin, carotin cho người. Cám và phôi hạt của cây họ Lúa là nguồn giàu vitamin nhóm B.

Hàm lượng vitamin trong cây phụ thuộc rất nhiều nhân tố : điều kiện gieo trồng, đặc trưng giống, pha phát triển... Sự tích lũy carotin liên quan chặt chẽ việc sử dụng phân nitơ, còn Bo, Zn và phân Mn tạo điều kiện tích lũy vitamin nhóm B trong cây trồng có hạt.

Vitamin rất linh động, bị phá hủy nhanh do oxi không khí, khi phân tích phải đặc biệt chú ý điểm này.

Theo đặc điểm hòa tan thì vitamin có thể được chia ra hai nhóm : Hòa tan trong nước (vitamin C, B_1, B_2 và PP), hòa tan trong mỡ (vitamin A, E). Hàm lượng vitamin trong nông sản được coi là chỉ tiêu chỉ chất lượng sản phẩm, khi phân tích tiến hành ở trạng thái mẫu tươi.

– *Chuẩn bị mẫu để phân tích.* Lấy mẫu trung bình quả, củ, lá, rau từ ngoài đồng mang về phòng thí nghiệm, rửa sạch và lau khô bằng giấy lọc.

Mẫu trung bình thường gồm khoảng từ 10 – 20 mẫu, nghiền nhỏ tất cả rất khó khăn, bởi vậy trộn đều và chia thành phần nhỏ. Lấy một số phần để chuẩn bị phân tích.

Đối với củ theo chiều dọc chia ra 6 – 8 phần, để phân tích từ mỗi củ lấy 1 phần. Cần tính tỉ lệ giữa các phần để lấy mẫu cho đại diện.

Quả và hạt nhỏ thì phải nghiền, trộn đều lấy một phần để làm mẫu phân tích.

Đối với rau (mẫu lá) thì lấy 1/2 lá của một cây, và lấy nhiều phần như vậy để làm mẫu phân tích.

Mẫu phân tích nghiền nhỏ bằng cối sứ hay bằng chất dẻo cứng, không sử dụng dụng cụ bằng sắt, đồng, bởi vì Fe, Cu xúc tác phá hủy vitamin C.

Xác định vitamin C. Vitamin C – axit ascobic ($C_6H_8O_6$) có tính khử mạnh. Trong cây rất dễ chuyển axit ascobic thành đehiđroascobic và phản ứng ngược lại.

Nguyên lí phương pháp : Dịch chiết bằng nước mẫu cây chứa vitamin C (axit ascobic), khử dung dịch màu xanh (2, 6 – điclophenolindophenol) thành hợp chất không màu. Phản ứng này là cơ sở của phương pháp xác định axit ascobic.

– *Trình tự phân tích :*

Cân 1 – 3 gam (lá xanh) và 5 – 10 gam (củ) cho vào cối sứ nghiền nhỏ đồng nhất.

Thêm 20 ml dung dịch HCl 1%, tiếp tục nghiền, trộn trong thời gian 10 phút.

Chuyển hỗn hợp trong cối sang bình định mức 100 ml (dùng đũa thủy tinh).

Rửa cối sứ, chày, đũa thủy tinh nhiều lần bằng dung dịch axit metaphotphoric 2%, nước rửa thu vào bình 100 ml.

Lắc đều và định mức tới vạch bằng axit HPO_3 2%.

Để yên bình 10 – 15 phút để tách axit ascobic và protein.

Lọc qua giấy lọc nhanh vào bình hay cốc.

Lấy hai mẫu, mỗi mẫu 10 – 20 ml cho vào bát sứ nhỏ.

Chuẩn độ dung dịch trong bát sứ bằng dung dịch màu xanh (2,6 – điclophenolindophenol) đều xuất hiện màu hồng rõ không mất sau 1 phút.

Hỗn hợp HCl và axit HPO_3 cũng có tính khử liên quan đến màu xanh, vì vậy phải làm mẫu kiểm tra. Để làm mẫu kiểm tra lấy 20 ml HCl 1% cho vào bình 100 ml, thêm đến vạch bằng axit HPO_3, lắc đều. Lấy 2 mẫu mỗi mẫu 10 – 20ml cho vào bát sứ chuẩn độ bằng 2,6 điclophenolindophenol đến màu hồng (ghi kết quả).

Axit HCl tách từ mô thực vật axit ascobic và cũng có khả năng tách một số men. Axit HPO_3 sử dụng để kết tủa protein, tăng tính bền vững của axit ascobic trong chất tách.

– *Tính kết quả* : Hàm lượng axit ascorbic được tính bằng mg/100g chất tươi theo công thức sau :

$$\text{Vitamin C} = \frac{V \cdot x \cdot 0{,}088 \cdot V \cdot 100}{n_{,} \cdot d}$$

V : thể tích dung dịch màu tiêu tốn trong chuẩn độ (ml) và x là độ chuẩn của nó.

0,088 là mg đương lượng của chất màu ;

V_1 : thể tích tổng số của dịch tách (ml) ;

d : thể tích phần chiết lấy để chuẩn (ml) ; n : khối lượng mẫu (g).

– *Hóa chất :*

HCl 1%

HPO_3 2%, thời gian bảo quản 2 – 3 tuần trong tủ lạnh .

Dung dịch 2,6 – điclophenolindophenol 0,001N (dung dịch có màu xanh) : hòa tan 60g trong bình định mức 200 ml bằng nước ấm, thêm 4 – 5 giọt NaOH 0,01N, lắc đều định mức tới vạch. Dung dịch màu chuẩn bị trước khi phân tích. Bảo quản trong tủ lạnh đến 8 ngày. Độ chuẩn xác định trong ngày phân tích bằng dung dịch kali iôđua (KIO_3) có nồng độ chuẩn.

KIO_3 : hòa tan 0,0357g và định mức tới 1 lít.

Xác định độ chuẩn của 2,6 – điclophenolindophenol : Người ta biết rằng 1 ml dung dịch KIO_3 0,001N tương đương 0,088mg axit ascobic. Pha dung dịch axit ascobic có nồng độ loãng bằng cách cân 1,5mg (một vài tinh thể) axit hòa tan trong bình định mức 50ml bằng HCl 2% định mức tới vạch. Lấy 2 mẫu mỗi mẫu 10 – 15ml cho vào bát sứ, một mẫu chuẩn bằng dung dịch màu xanh, còn mẫu thứ 2 bằng dung dịch KIO_3 nhưng trước khi chuẩn thêm 5 – 10mg kali iođua (KI) và 5 giọt dung dịch hồ tinh bột. Độ chuẩn của chất màu xanh (2,6 – điclophenolindophenol)

$$X = \frac{a \cdot N}{b}$$

X : độ chuẩn chất màu.

N : nồng độ iôđatkali.

a : thể tích KIO_3 tiêu tốn khi chuẩn độ (ml).

b : thể tích chất màu xanh tiêu tốn trong chuẩn độ (ml).

9. Xác định carotin và clorophyl trong một mẫu

Sắc tố thực vật có màu vàng hay da cam không hòa tan trong nước, hòa tan trong dung môi hữu cơ (axeton, benzen) là nhóm carotinoit. Trong đó carotin là sắc tố điển hình của nhóm, có nhiều trong cà rốt, hạt ngô cùng với clorophyl có màu xanh. Công thức carotin – $C_{40}H_{56}$. Thông thường sắc tố cây là hỗn hợp của 2,3 đồng phân, đặc trưng là carotin. Người ta cho rằng carotin như chất mang oxi hoạt tính đóng vai trò quan trọng trong quá trình quang hợp, hô hấp và sinh trưởng. Carotin có ý nghĩa trong dinh dưỡng của người và động vật bởi vì trong cơ thể khi phân hủy men thì một phân tử carotin tạo thành 2 phân tử vitamin A. Thiếu vitamin A dẫn đến sự phá hủy sinh trưởng, giảm miễn dịch đối với bệnh, đặc biệt là mắt. Nguồn vitamin quan trọng trong dinh dưỡng con người là rau (xalat, hành, cà rốt, cà chua...) và mỡ cá biển. Xác định carotin cần để đánh giá chất lượng sản phẩm thực vật mà nó có ý nghĩa đối với sức khỏe con người.

– *Nguyên lí phương pháp.* Phương pháp phân tích sắc kí hấp phụ là phương pháp sử dụng xác định carotinoit. Nguyên tắc của phương pháp là các chất màu của nguyên liệu cây (lá, củ...) được chiết bằng các dung môi hữu cơ hay là hỗn hợp của chúng như rượu, axeton. Sau đó dịch chiết cho chảy qua ống thủy tinh đầy chất hấp phụ (hoạt thạch tán mịn, tinh bột, $CaCO_3$, nhôm oxit). Mỗi một sắc tố khác nhau có tốc độ di chuyển khác nhau theo cột hấp phụ và được tập trung ở lớp nhất định của cột hấp phụ. Lớp chất hấp phụ chứa các sắc tố được rút ra bằng dung môi và định lượng nó bằng cách đo màu trên máy so màu.

– *Trình tự phân tích :*

Cân 20 – 30g mẫu lá hay củ nghiền nhỏ sơ bộ trong cối sứ.

Lấy 1 – 5g cho vào bát sứ, thêm vào 0,5g Na_2CO_3 để trung hòa axit, vì môi trường axit carotin bị phá hủy (3g Na_2CO_3/1g mẫu).

Thêm vào bát sứ 5g chất hấp phụ Al_2O_3 và 0,5g cát thạch anh, nghiền đều thành khối đồng nhất, để vào chỗ tối 20 phút để hấp phụ hoàn toàn sắc tố.

Chuẩn bị phễu hấp phụ : Đáy phễu lót một lớp bông chặt vừa phải, sau đó đổ vào phễu nhôm oxit (chặt vừa). Chiều cao lớp hấp phụ khoảng 2,5cm. Bề mặt chất hấp phụ nén đều, thấm ướt bằng những giọt nước cất (khoảng 15 giọt). Đặt phễu trên bình thu (bình định mức 100 ml).

Chuyển hỗn hợp mẫu phân tích lên trên chất hấp phụ ở trong phễu.

Tráng bát sứ, chày bằng 20ml benzen và rót vào phễu. Tráng một vài lần cho tới khi bát sạch vết sắc tố, rót nhẹ dịch rửa vào phễu và đảm bảo sao cho mẫu ngập một lớp mỏng dung môi, vì carotin có thể bị oxi hóa khi tiếp xúc với không khí.

Chiết carotin cho đến khi sắc tố vàng hết, nghĩa là giọt benzen chảy ra không màu của sắc tố.

Định mức dịch chiết đến vạch bằng benzen.

Đo màu dung dịch carotin thu được với kính lọc sáng xanh, cuvet 5 – 10mm. Dung dịch đối chứng là benzen.

– *Tính kết quả.* Tính kết quả (mg carotin/100g) theo công thức sau :

$$A = \frac{a \cdot V \cdot 100}{n}$$

V : thể tích dịch chiết thu nhận.
a : số lượng carotin theo đồ thị (mg).
n : khối lượng mẫu (g).

– *Hóa chất :*

Nhôm oxit (Al_2O_3), sấy khô ở 105°C, độ ẩm khoảng 4%, bảo quản trong lọ thủy tinh nút nhám.

Na_2SO_4 khan.

Na_2CO_3 bột.

Benzen làm sạch bằng than hoạt tính.

Dung dịch tiêu chuẩn gốc để tạo thang màu tiêu chuẩn : Hòa tan 720 mg $K_2Cr_2O_7$ trong 1 lít nước cất, 1 ml dung dịch này tương đương 0,00416 mg carotin, sự pha loãng tiến hành trong bình định mức 100 ml định mức đến vạch mức bằng nước cất. Dung dịch gốc $K_2Cr_2O_7$ bảo quản lâu trong bóng tối.

10. Xác định NO_3^- , NO_2^- trong thực vật

Khi sử dụng nhiều phân nitơ thì có nguy cơ tích lũy trong thực vật NO_3^- , NO_2^- và nitrozoamin. Các sản phẩm đó là hợp phần tự nhiên của quá trình chuyển hóa hợp chất nitơ, tuy nhiên nếu tích lũy số lượng lớn sẽ gây nguy hiểm. Nitrat và sản phẩm khử của nó làm thay đổi tính miễn dịch của cơ thể, độc cho phôi thai. Người ta đã tìm ngưỡng an toàn của NO_3^- trong thực phẩm, nước . Vì vậy xác định hàm lượng của nó rất có ý nghĩa về mặt môi trường.

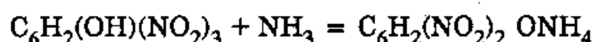
a) Xác định NO_3^- *bằng axit disunphophenic.* Đây là phương pháp so màu được sử dụng phổ biến để định lượng NO_3^- (do Grandvan – Liaz giới thiệu).

Có thể dùng nước, hay là muối trung tính có nồng độ nhỏ để khỏi làm cho dung dịch có màu (K_2SO_4 0,05%) để chiết NO_3^- khỏi mẫu thực vật.

– *Nguyên lí phương pháp :* NO_3^- tác dụng với axit disunphophenic thành nitrophenol, khi kiềm hóa thì dung dịch trở nên màu vàng và có cường độ màu phụ thuộc vào nồng độ NO_3^- trong mẫu.



$$C_6H_3(HSO_3)_2OH + 3HNO_3 = C_6H_2\,(OH)(NO_2)_3 + 2H_2SO_4 + H_2O$$



$$C_6H_2(OH)(NO_2)_3 + NH_3 = C_6H_2(NO_2)_2\,ONH_4$$

Nitrophenol, dung dịch màu vàng.

Phương pháp này có độ chính xác khá cao (xác định được 10^{-3}mg NO_3^-/lít dung dịch, tuy nhiên xác định hơi lâu.

Xác định NO_3^- tốt nhất tiến hành với mẫu tươi.

– *Trình tự phân tích :*

2 – 10g mẫu thực vật nghiền nhỏ đồng nhất trong cối sứ .

Dùng nước cất chuyển mẫu vào bình định mức 250ml lắc đều và định mức tới vạch.

Lọc qua giấy lọc dày, nếu phần đầu dịch lọc bị đục có thể bỏ và thêm vào 1g than hoạt tính nghiền nhỏ.

Lấy 50ml dịch lọc cho vào bát sứ bay hơi đến gần khô trên bếp cách thủy, không được để cháy.

Để bát sứ nguội cho vào 1ml axit disunphophenic.

Phần cặn hòa tan trong axit, dùng đũa thủy tinh khuấy đều.

Sau 10 phút thêm vào 25ml nước, lắc đều và trung hòa bằng cách thêm từng giọt NaOH 10% theo giấy quỳ tím, dung dịch sẽ trở nên màu vàng, lượng kiềm thừa ít không ảnh hưởng đến sự hiện màu.

Chuyển dung dịch sang bình định mức 100ml, rửa bát sứ, đũa và tất cả nước rửa cho vào bình định mức, định mức đến vạch.

So màu dung dịch màu phân tích với kính lọc sáng màu xanh.

Mẫu đối chứng với 50 ml nước cất và thủ tục phân tích như khi phân tích mẫu thí nghiệm.

Xác định NO_3^- có thể bị ảnh hưởng do chất hữu cơ mang màu, hay sự có mặt nhiều của Cl^- và NH_4^+ . Phá hủy chất hữu cơ bằng cách bay hơi dung dịch phân tích đến còn khoảng 5 ml thêm vào 1 ml H_2O_2 30 % và thêm 1 vài lần với lượng H_2O_2 ít dần để phá hủy hoàn toàn chất hữu cơ. Lượng Cl^- nhiều trong mẫu loại bằng cách kết tủa với thuốc thử Ag_2SO_4 (Theo Bremnơ) với lượng 0,1g Ag_2SO_4 100 ml dung dịch, lắc 25 phút, loại trừ lượng Ag^+ thừa bằng cách thêm vào 0,2g $Ca(OH)_2$ và 0,5g $MgCO_3$, lắc trong 5 phút. Lọc qua giấy lọc. Dung dịch lọc trong lấy phân tích NO_3^- như trên. Loại trừ ảnh hưởng của NH_4^+ bằng cách trước lúc bay hơi cho vào bát sứ 2 – 3 giọt K_2SO_4 10 %.

Chuẩn bị thang chuẩn NO_3^- cũng tiến hành như khi phân tích mẫu thí nghiệm : Lấy 6 bát sứ lần lượt cho vào đó 0,5 , 10, 15, 20 và 25 ml dung dịch chuẩn chứa NO_3^-, thủ tục tiếp theo như phân tích mẫu.

– *Tính kết quả.* Hàm lượng nitơ NO_3^- (mg) được tính theo công thức sau :

$$NO_3^-(mg) = \frac{a \cdot V \cdot 100}{n \cdot c}$$

a : lượng NO_3^- trong 1ml dung dịch mẫu (mg) theo đồ thị.

V : thể tích tổng số của dịch chiết.

c : thể tích dịch chiết được lấy để phân tích.

n : khối lượng nguyên liệu thực vật (g).

– Hóa chất :

Dung dịch disunphophenic. 30g phenol tinh khiết cho vào bình 500ml, thêm vào 200ml H_2SO_4 (d = 1,84) lắc đều, đậy bằng hệ thống sinh hàn và đặt bình trên bếp cách thủy đun 6 giờ. Sau đó để nguội và dùng để phân tích. Hay là cân 50g phenol – 2,4 disunfo axit hòa tan bằng 100ml axit H_2SO_4 đặc.

NaOH hay KOH 10%.

Dung dịch chuẩn chứa NO_3^- : Cân 0,1631g KNO_3 hòa tan trong 1 lít nước, lấy 100ml dung dịch này pha thành 1 lít sẽ có dung dịch này chứa 0,01mg NO_3^-/ml dùng để cấu tạo thang mẫu tiêu chuẩn.

H_2O_2 30%.

Ag_2SO_4 ở dạng bột.

$Ca(OH)_2$ ở dạng bột.

$MgCO_3$ ở dạng bột.

b) Xác định NO_3^- bằng phương pháp đo ion

– Nguyên lí phương pháp : Phương pháp dựa trên cơ sở tách NO_3^- ra khỏi sản phẩm thực vật bằng dung dịch phèn nhôm kali 1% (với tỉ lệ mẫu : dung dịch = 1/5) và xác định NO_3^- trong dung dịch nhờ điện cực chọn lọc ion. Nguyên lí của phương pháp là đo điện thế điện cực chọn lọc ion, mà giá trị điện thế phụ thuộc vào nồng độ ion xác định trong dung dịch. Điện cực clorat bạc bão hòa được sử dụng như điện cực bổ sung. Phương pháp này sẽ không dùng nếu như lượng Cl^- trong nguyên liệu phân tích vượt lượng NO_3^- khoảng 50 lần. Độ nhạy của phương pháp : 6 mg/l dung dịch phân tích.

– Trình tự phân tích :

10 ± 0,1 gam nguyên liệu cho vào cốc nghiền, thêm vào 50ml dung dịch phèn nhôm kali 1% (tỉ lệ 1/5).

Nghiền trong 10 phút để cho hỗn hợp đồng nhất.

Huyền phù thu nhận được dùng để xác định NO_3^-.

Phân tích cây thuộc họ chữ thập (Cruciferae) thì phải lọc và pha loãng 10 lần để cho giá trị < 2,5.

Đo nồng độ ion NO_3^- bằng đơn vị $pC_{NO_3^-}$ theo thang của dụng cụ. Trên thang của dụng cụ điện thế kế ghi chỉ số $pC_{NO_3^-}$ bằng 4 và 2. Dung dịch so sánh có $pC_{NO_3^-}$ = 3 được dùng để kiểm tra chỉnh máy. Độ lệch của giá trị $pC_{NO_3^-}$ so với giá trị $pC_{NO_3^-}$ định mức của dung dịch so sánh cần ≤ 0,02 đơn vị $pC_{NO_3^-}$. Sau khi chỉnh máy thì

điện cực được rửa bằng nước cất, lau khô bằng giấy lọc, và nhúng điện cực vào dung dịch đo (dịch nghiên cứu), đọc số sau một phút khi độ chỉ dụng cụ ổn định. Khi đo mẫu khác cần rửa các điện cực bằng nước và trong một ngày làm việc cần kiểm tra máy theo dung dịch chuẩn so sánh không ít hơn 3 lần (mỗi lần dùng dung dịch so sánh mới). Trước mỗi lần kiểm tra máy, điện cực NO_3^- cần giữ trong dung dịch so sánh có nồng độ NO_3^- = 0,0001M/lít trong thời gian 3 - 4 phút.

Đo nồng độ ion NO_3^- theo đồ thị. Đồ thị được xây dựng theo kết quả của phép điện thế của một cặp điện cực biểu thị bằng "mV". Đồng thời nút của máy đặt ở vị trí mV. Đo điện thế cặp điện cực trong dung dịch so sánh bắt đầu từ nồng độ thấp nhất ($pC_{NO_3^-}$ = 4). Điện cực có hàm tuyến tính trong khoảng từ 1 đến 4 đơn vị $pC^-_{NO_3}$ với độ nghiêng 56 ± 3mV trên một đơn vị $pC_{NO_3^-}$. Tìm giá trị $pC_{NO_3^-}$ của dung dịch nghiên cứu trên đồ thị được xây dựng theo kết quả đo điện thế trong dung dịch so sánh với $pC_{NO_3^-}$ (bằng 1, 2, 3, 4 đơn vị).

Có thể tính NO_3^- trong nguyên liệu bằng mg/kg theo công thức sau :

$$X = \frac{V + \frac{W.n}{100.1} \cdot 10^{-pC_{NO_3^-}} \cdot 62 \cdot 10^6}{100 \cdot n}$$

62 : khối lượng ion NO_3^- (g).

n : khối lượng mẫu (g).

V : thể tích của dung dịch chiết (ml).

$10^{-pC_{NO_3^-}}$: nồng độ NO_3^- trong nước chiết (M/l).

1000 : hệ số chuyển lít thành ml.

W : lượng nước trong mẫu.

1 : tỉ trọng nước (g/ml).

10^6 : hệ số chuyển phần đơn vị thành phần triệu (mg/kg).

Trong trường hợp V = 50ml, n = 10g thì công thức trên được rút gọn như sau :

$$X = \left(50 + \frac{W}{10}\right) \cdot 10^{-pC_{NO_3^-}} \cdot 6200$$

Cuối cùng tra bảng để chuyển giá trị $pC_{NO_3^-}$ thành phần NO_3^- trong mẫu phân tích (xem bảng phụ lục 14).

– *Hóa chất :*

Dung dịch phèn nhôm kali 1% : Hòa tan 11g phèn, định mức đến 1 lít.

Dung dịch so sánh kalinitrat : hòa tan 10,11g KNO_3 trong dung dịch phèn nhôm kali 1% và định mức tới 1 lít bằng dung dịch này.

Dung dịch để chuẩn bị thang tiêu chuẩn. 0,01M NO_3^-/l ($pC_{NO_3^-}$ = 2), 0,001 M/l ($pC_{NO_3^-}$ = 3), 0,0001 M/l ($pC_{NO_3^-}$ = 4), pha loãng 10 lần dung dịch trên bằng dung

dịch phèn nhôm. Chúng được sử dụng để kiểm tra máy, điện cực và xây dựng đồ thị. Điện cực chọn lọc ion màng và điện cực bạc clorua so sánh được chuẩn bị theo chỉ dẫn của điện cực. Khi đo thì khoảng thời gian giữa các lần xác định điện cực chọn lọc ion phải ngâm vào nước, còn nghỉ vài ngày hay hơn thì điện cực bảo quản trong dung dịch KNO_3 với nồng độ 0,1 M/l và khi nghỉ lâu hơn (hơn 5 ngày) thì điện cực bảo quản trong không khí. Trong tất cả mọi trường hợp trước khi đo thì điện cực giữ trong nước cất, không ít hơn 10 phút. Điện cực bạc clorua so sánh khi nghỉ giữa các lần đo ngâm vào nước.

* Giới hạn cho phép hàm lượng nitrát (NO_3^-) trong một số loại rau (theo Hội tiêu chuẩn CAC của tổ chức lương thực thế giới) như sau :

Tên rau	*NO_3^- cho phép (mg/kg)*
Bắp cải	500
Khoai tây	250
Cà chua	300
Sulơ	300
Dưa chuột	150
Xà lách	2000
Củ cải	1400
Hành tây	80

c) Xác định nitrit bằng axit sunfanilic

– *Nguyên lí phương pháp :* Phương pháp dựa trên cơ sở tách NO_2^- bằng axit sunfanilic và α–naphtylamin trong môi trường axit axetic với sự tạo thành sản phẩm màu. Cường độ màu được đo bằng so màu ở độ dài bước sóng 540nm.

– *Trình tự phân tích :*

10g nguyên liệu đã nghiền thô cho vào cốc li tâm.

Thêm vào 15ml axit axetic 2%, đun đến 50°C và để đến nhiệt độ phòng 15 phút, khuấy đều bằng đũa thủy tinh.

Li tâm 15 phút với tốc độ 5000 vòng/phút.

Gạn dịch phía trên cặn vào bình 50ml.

Lại tách tiếp bằng cách thêm 50ml dung dịch axit axetic 2%.

Làm trong dịch lọc bằng cách thêm vào 20ml dịch lọc 10ml huyền phù nhôm hiđroxit.

Sau 30 phút lọc qua giấy lọc chậm, nếu dịch lọc có màu thì thêm một ít than hoạt tính nghiền nhỏ (0,3 – 0,5g than hoạt tính với 12,5ml dịch lọc) và lọc vào bình định mức 25ml rửa kết tủa bằng nước cất và định mức tới vạch.

Lấy 8ml dung dịch trong thêm vào 2ml thuốc thử Gricc, lắc đều và sau 20 phút so màu. Mẫu đối chứng là 2ml thuốc thử Gricc và 8ml nước cất.

– *Tính kết quả.* Lượng ion NO_2^- (mg/kg nguyên liệu thực vật ở độ ẩm tự nhiên) được tính :

$$C = \frac{a.p.1000}{n}$$

a : lượng ion nitrit theo đồ thị (mg)

n : khối lượng mẫu

p : sự pha loãng.

– *Hóa chất :*

Axit axetic 2%.

Huyền phù nhôm hiđroxit : 125g phèn nhôm kali hay phèn nhôm amoni hòa tan trong 1 lít nước cất, đun đến 70°C (để hòa tan hoàn toàn phèn) và rót từ từ 55ml NH_4OH (d = 0,92). Để đứng trong 1 giờ và nhôm hiđroxit sẽ lắng xuống, sau đó rửa bằng nước đến khi không có phản ứng của Cl^-, NO_3^- và NO_2^-.

Than hoạt tính.

Dung dịch Gricc 3% được pha mới bằng dung dịch axit axetic 2%

Chuẩn bị dung dịch để xây dựng đồ thị : Hòa tan 375mg natrinitrit trong 1000ml nước cất (dung dịch chuẩn 1). Lấy 10ml dung dịch này hòa tan đến 1000ml (dung dịch chuẩn 2). Dung dịch này chứa 2,5μg ion NO_2^- trong 1ml. Dung dịch chuẩn 2 sử dụng để chuẩn bị thang dung dịch chuẩn chứa từ 0,125 đến 1,25μg NO_2^-/ml.

PHỤ LỤC

1. Nồng độ axit và amoniac thường gặp

Tên dung dịch	Tỉ trọng ở 20°C	% trọng lượng	Nồng độ N
Amoniac đậm đặc	0,907	25,00	13,40
– pha loãng	0,975	10,00	6,00
– –	0,977	5,00	3,00
Axit nitric đậm đặc	1,40	67,00	15,00
– pha loãng	1,115	20,00	3,50
– –	1,054	10,00	1,70
Axit sunfuric đậm đặc	1,834	95,00	36,00
– pha loãng	1,178	25,00	6,00
– –	1,032	5,00	1,20
Axit clohiđric đậm đặc	1,184	37,00	12,00
– pha loãng	1,098	20,00	6,00
– –	1,047	10,00	3,00
Axit axetic đậm đặc	1,050	100,00	17,50
– pha loãng	1,013	10,00	1,70
– –	1,005	5,00	0,90
Axit photphoric đặc	1,700	85,00	14,70
Axit flohiđric đặc	1,146	46,60	26,30
Axit pecloric	1,540	60,00	9,00

2. Pha dung dịch phần trăm axit và amoniac

(ml dung dịch đặc để pha thành 1 lít)

Hóa chất để pha	Tỉ trọng của nó ở 15°C	Nồng độ phần trăm %	Các nồng độ phần trăm muốn pha					
			25%	20%	10%	5%	2%	1%
HCl	1,19	37,23	634,8	496,8	236,4	115,2	45,5	22,6
H_2SO_4	1,84	95,6	167,7	129,9	60,6	29,3	11,5	5,60
HNO_3	1,40	65,6	313,6	243,6	115,0	56,0	22,0	10,80
CH_3COOH	1,05	99,5	247,8	196,7	97,1	48,2	19,2	9,00
NH_4OH	0,91	25,0	1000,0	814,0	422,0	215,4	87,2	43,7

3. Chỉ thị màu

Chỉ thị màu	Nồng độ (%)	Dung môi	Quãng pH đổi màu	Biến đổi màu chỉ thị
1	2	3	4	5
Metyl tím (bước chuyển 1)	0,1	Nước	0,1 - 0,5	Vàng - xanh lục
Metyl tím (bước chuyển 2)	0,1	Nước	1,0 - 1,5	Xanh lục - xanh biển
Crezon đỏ tía (bước chuyển 1)	0,05	a) Cồn 20% b) 5,3ml 0,05N NaOH + nước tới 100ml	0,5 - 2,5	Đỏ - vàng
Timon xanh (bước chuyển 1)	0,1	a) Cồn 20% b) 4,3ml 0,05N NaOH + nước tới 100ml	1,2 - 2,8	Đỏ - vàng
Crezon đỏ (bước chuyển 1)	0,1	a) Cồn 20% b) 5,3ml 0,05N NaOH + nước tới 100ml	1,9 - 3,1	Da cam - vàng
β - dinitrophenon (2,6 dinitrofenol)	0,1	Nước	2,4 - 4,0	Không màu - vàng
α - dinitrophenon (2/4 dinitrophenol)	bão hòa	Nước	2,8 - 4,4	Không màu - vàng
Metyl vàng (n-dime tilaminoazobenzon)	0,1	Cồn 90%	2,9 - 4,0	Đỏ - vàng
Bromphenon xanh	0,01	a) Cồn 20% b) 3,0ml 0,05N NaOH + nước tới 100ml	3,0 - 4,6	Vàng - xanh biển
Cônggô đỏ	0,1	Nước	3,0 - 5,2	Tím xanh - đỏ
Metyl da cam	0,1	Nước	3,1 - 4,4	Đỏ - vàng da cam
Bromerezon xanh	0,1	a) Cồn 20% b) 2,9ml 0,05N NaOH + nước tới 100ml	3,8 - 5,4	Vàng - xanh biển
γ - dinitrophenon (2,5 dinitrophenol)	0,1	Nước	4,0 - 5,4	Không màu - vàng
Metyl đỏ	0,1 và 0,2	Cồn 60%	4,4 - 6,2	Đỏ - vàng
Lacmolt (quỳ)	0,2 và 0,5	Cồn	4,4 - 6,4	Đỏ - xanh biển
γ - nitrophenon	0,1	Nước	5,0 - 7,0	Không màu - vàng
Clorophenon đỏ	0,1	a) Cồn 20% b) 4,7ml 0,05N NaOH + nước tới 100ml	5,0 - 6,6	Vàng đỏ
Azolitmin	0,1 và 1,0	Nước	5,0 - 8,0	Đỏ - xanh biển
Bromerezon đỏ tía	0,1	a) Cồn 20% b) 3,7ml 0,05N NaOH + nước tới 100ml	5,2 - 6,8	Vàng - đỏ tím

3. Chỉ thị màu (tiếp)

1	2	3	4	5
Bromphenon đỏ	0,05	a) Cồn 20% b) 3,9ml 0,05N NaOH + nước tới 100ml	5,4 – 7,0	Vàng – đỏ
Bromtimon xanh	0,05	a) Cồn 20% b) 3,2ml 0,05N NaOH + Nước tới 100ml	6,0 – 7,6	Vàng – xanh biển
Đỏ trung tính	0,1	Cồn 60%	6,8 – 8,0	Đỏ – vàng hổ phách
Phenon đỏ	0,1	a) Cồn 20% b) 5,7ml 0,05N NaOH + nước tới 100ml	6,8 – 8,0	Vàng – đỏ
m – nitrophenon	0,3	Nước	6,8 – 8,4	Không màu – vàng
Axit rozolic	0,5	Cồn 50%	6,9 – 8,0	Vàng – hổ phách – đỏ tía
Crezon đỏ (bước chuyển 2)	0,1	a) Cồn 20% b) 5,3ml 0,05N NaOH + nước tới 100ml	7,2 – 8,8	Vàng hổ phách – đỏ hơi tía
α – naftophtalein	1,0 và 0,1	Cồn 50%	7,3 – 8,7	Hồng vàng – lục xạnh
Crezon đỏ tía	0,5	a) Cồn 20% b) 5,2ml 0,05N NaOH + nước tới 100ml	7,6 – 9,2	Vàng – đỏ tía
Timon xanh (bước chuyển 2)	0,1	a) Cồn 20% b) 4,3ml 0,05N NaOH + nước tới 100ml	8,0 – 9,6	Vàng – xanh biển
γ – cresonphtalein	0,2	Cồn 90%	8,2 – 9,8	Không màu – đỏ
Phenonphtalein	0,1 và 1,0	Cồn 60%	8,2 – 10,0	Không màu – đỏ
Timonphtalein	0,1	Cồn 90%	9,3 – 10,5	Không màu – xanh biển
Xanh Nil B.	0,1	Nước	10,0 – 11,0	Xanh biển – đỏ
Alizarin đỏ (bước chuyển 2)	0,1	Nước	10,0 – 12,0	Tím – vàng nhạt
Nitramin	0,1	Cồn 60%	10,8 – 13,0	Không màu – đỏ nâu
Lục malachit (bước chuyển 2)		Nước	11,5 – 13,2	Lục pha da trời – không màu
Indigocacmin	0,25	Cồn 50%	11,6 – 14,0	Xanh biển – vàng
Tasirô (chỉ thị hỗn hợp)	–	0,15 metila đỏ trong 100ml cồn và 0,05g mêtilen xanh trong 5ml nước cất và trộn đều.	5,4	Đỏ tím – xanh lục

4. Kiểm tra nồng độ các dung dịch chuẩn độ đã pha

(bằng dung dịch chất gốc có nồng độ chính xác)

Dung dịch chuẩn độ đã pha	Chất gốc	Số gam để pha 100ml 0,100N chất gốc	Bình tam giác ngoài 20ml chất gốc phải thêm các chất phụ sau	Chuẩn độ đến
H_2SO_4.0,1N	Tetra borat natri $Na_2B_4O_7.10H_2O$	1,910	2 giọt chỉ thị mêtyl da cam	Vàng sang đỏ nhạt
NaOH.0,1N	Axit oxalic $H_2C_2O_4.2H_2O$	0,630	3 giọt chỉ thị Phenonphtalêin	Xuất hiện hồng nhạt
$KMnO_4$.0,1N	Axit oxalic $H_2C_2O_4.2H_2O$	0,630	15ml H_2SO_4 1 : 4 Đun nóng nhẹ (80°C)	Xuất hiện hồng nhạt
$Na_2S_2O_3$.0,1N	Bicromat kali $K_2Cr_2O_7$ (Sấy khô 100°C)	0,490	15ml KI 10%, 3ml HCl đặc, 150ml nước cất. Chuẩn độ đến vàng nhạt thì thêm 2ml tinh bột 0,5%	Mất màu xanh
$AgNO_3$.0,02N	Clorua natri Khan NaCl (Sấy 120°C)	0,580	Chỉ hút vào bình tam giác 5ml NaCl 0,100N. Và độ 20ml nước. Thêm 1ml K_2CrO_4 10%	Xuất hiện màu nâu
Trilon B. 0,05N	Magie sunfat $MgSO_4.7H_2O$	1,2325	5ml đệm amôn (pH = 11) 10 giọt chỉ thị Cromogen đen 0,5%	Từ đỏ sang xanh biển

5. Nồng độ và tỉ trọng axit sunfuric và clohiđric

(Nồng độ phần trăm trọng lượng)

%	dH_2SO_4	dHCl	%	dH_2SO_4	%	dH_2SO_4	%	dH_2SO_4
20	1,1391	1,098	41	1,3116	61	1,5091	81	1,7383
21	1,1471	1,103	42	1,3205	62	1,5200	82	1,7491
22	1,1548	1,1083	43	1,3291	63	1,5310	83	1,7594
23	1,1626	1,1135	44	1,3381	64	1,5121	84	1,7693
24	1,1701	1,1187	45	1,3476	65	1,5533	85	1,7786
25	1,1783	1,1239	46	1,3569	66	1,5646	86	1,7872
26	1,1862	1,1290	47	1,3663	67	1,5760	87	1,7951
27	1,1942	1,1342	48	1,3758	68	1,5874	88	1,8022
28	1,2023	1,1392	49	1,3854	69	1,5989	89	1,8087
29	1,2104	1,1413	50	1,3951	70	1,6105	90	1,8144
30	1,2185	1,1193	51	1,4019	71	1,6221	91	1,8195
31	1,2767	1,1514	52	1,4148	72	1,6338	92	1,8210
32	1,2319	1,1593	53	1,4218	73	1,6156	93	1,8279
33	1,2132	1,1613	54	1,4153	74	1,1571	94	1,8312
34	1,2515	1,1691	55	1,1453	75	1,6692	95	1,8337
35	1,2599	1,1741	56	1,4557	76	1,6810	96	1,8355
36	1,2681	1,1789	57	1,4662	77	1,6927	97	1,8361
37	1,2769	1,1837	58	1,1768	78	1,7013	98	1,8361
38	1,2855	1,1885	59	1,4875	79	1,7158	99	1,8312
39	1,2941	1,1933	60	1,4983	80	1,7272	100	1,8305
40	1,3028	1,1980						

6. Hỗn hợp đệm $CH_3COOH + CH_3COONa$

pH	CH_3COOH 1,0N	pH	CH_3COOH 1,0N	pH	CH_3COOH 1,0N
3,8	421,5	4,67	100,0	5,5	57,4
3,9	345,1	4,7	96,8	5,6	55,9
4,0	284,4	4,8	87,2	5,7	54,7
4,1	236,2	4,9	79,5	5,8	53,7
4,2	197,9	5,0	73,4	5,9	53,0
4,3	167,4	5,1	68,6	6,0	52,3
4,4	143,3	5,2	64,8	6,1	51,9
4,5	124,1	5,3	61,7	6,2	51,5
4,6	108,9	5,4	59,3	6,3	51,2

Để được hỗn hợp đệm với giá trị pH cần thiết, lấy những thể tích dung dịch CH_3COOH 1N ở bảng trên, thêm 50ml NaOH 1,0N, thêm nước đến 500ml, lắc đều.

7. Hỗn hợp đệm $CH_3COOH + CH_3COONH_4$

pH	CH_3COOH 0,2N	NH_4OH
3,0	99,24	0,76
3,4	93,40	6,60
3,8	88,20	11,80
4,2	80,20	19,80
4,6	66,00	34,00
5,0	58,60	41,40
5,4	54,60	45,40
5,8	50,90	49,10
6,2	50,40	49,60
6,6	50,30	49,70
7,0	50,00	50,00
7,4	48,40	51,60
7,8	47,80	52,20
8,2	46,40	53,60
8,6	44,70	55,30
9,0	41,00	59,00
9,4	34,00	66,00
9,8	28,80	76,20
10,2	16,00	84,00
10,6	9,80	90,20
11,0	2,48	97,52

Hỗn hợp những thể tích CH_3COOH 0,2N và NH_4OH 0,2N lấy theo bảng trên rồi thêm nước đến 200ml ; lắc đều.

8. Thời hạn hút lấy mẫu phụ thuộc vào nhiệt độ và tỉ trọng thể rắn của đất

Đường kính cấp hạt (mm) nhỏ hơn	Tỉ trọng thể rắn (d)	Độ sâu lấy mẫu (cm)	Nhiệt độ °C					
			17,5	20	22,5	25	27,5	30
0,05	2,50	25	131"	123"	116"	109"	103"	98"
0,01	–	10	21' 46"	20' 31"	19' 19"	18' 15"	17' 13"	16' 19"
0,005	–	10	1h 27' 05"	1h 22' 01"	1h 17' 14"	1h 12' 58"	1h 08' 52"	1h 05' 11"
0,001	–	7	25h 26' 04"	23h 55' 43"	22h 31' 52"	21h 17' 17"	20h 05' 36"	19h 0,1' 40"
0,05	2,55	25	127"	119"	111"	106"	100"	95"
0,01	–	10	2' 04"	19' 51"	18' 41"	17' 39"	16' 40"	15' 47"
0,005	–	10	1h 24' 16"	1h 19' 24"	1h 14' 44"	1h 10' 37"	1h 06' 40"	1h 03' 08"
0,001	–	7	24h 36' 36"	23h 09' 23"	21h 48' 13"	20h 36' 00"	19h 26' 47"	18h 21' 51"
0,05	2,60	25	122"	115"	109"	103"	97"	92"
0,01	–	10	20' 25"	19' 14"	18' 14"	17' 08"	16' 09"	15' 17"
0,005	–	10	1h 21' 37"	1h 16' 55"	1h 12' 24"	1h 08' 25"	1h 04' 34"	1h 01' 10"
0,001	–	7	23h 48' 41"	22h 25' 57"	21h 07' 17"	19h 57' 26"	18h 50' 16"	17h 50' 20"
0,05	2,65	25	119"	112"	105"	100"	94"	89"
0,01	–	10	19' 48"	18' 39"	17' 33"	16' 35"	15' 39"	14' 50"
0,005	–	10	1h 19' 08"	1h 14' 34"	1h 10' 12"	1h 06' 21"	1h 02' 38"	59' 19"
0,001	–	7	23h 05' 26"	21h 45' 09"	20h 28' 59"	19h 21' 13"	18h 16' 05"	17h 17' 52"
0,05	2,70	25	115"	109"	102"	97"	91"	86"
0,01	–	10	19' 13"	18' 06"	17' 02"	16' 06"	15' 12"	14' 23"
0,005	–	10	1h 16' 50"	1h 12' 24"	1h 08' 10"	1h 04' 24"	1h 00' 47"	57' 31"
0,001	–	7	22h 24' 42"	21h 06' 44"	19h 52' 47"	18h 48' 40"	17h 43' 18"	16h 47' 21"
0,05	2,75	25	112"	105"	99"	94"	89"	84"
0.01	–	10	18' 40"	17' 35"	16' 33"	15' 38"	11' 46"	13' 59"
0,005	–	10	1h 14' 38"	1h 10' 19"	1h 06' 13"	1h 02' 31"	59' 01"	55' 56"
0,001	–	7	21h 46' 19"	21h 30' 32"	19h 18' 40"	18h 14' 51"	17h 13' 27"	16h 18' 35"

9. Đường khử (mg)

Cu	Glucozơ	Cu	Glucozơ	Cu	Glucozơ	Cu	Glucozơ
1,1	0,50	5,6	2,55	10,1	4,80	14,6	7,05
1,2	0,54	5,7	2,60	10,2	4,85	14,7	7,10
1,3	0,59	5,8	2,65	10,3	4,90	14,8	7,15
1,4	0,63	5,9	2,70	10,4	4,95	14,9	7,20
1,5	0,68	6,0	2,75	10,5	5,00	15,0	7,25
1,6	0,72	6,1	2,80	10,6	5,05	15,1	7,30
1,7	0,77	6,2	2,85	10,7	5,10	15,2	7,35
1,8	0,81	6,3	2,90	10,8	5,15	15,3	7,40
1,9	0,83	6,4	2,95	10,9	5,20	15,4	7,45
2,0	0,90	6,5	3,00	11,0	5,25	15,5	7,50
2,2	1,00	6,7	3,10	11,2	5,35	15,7	7,60
2,3	1,04	6,8	3,15	11,3	5,40	15,8	7,65
2,4	1,09	6,9	3,20	11,4	5,45	15,9	7,70
2,5	1,13	7,0	3,25	11,5	5,50	16,0	7,75
2,6	1,18	7,1	3,30	11,6	5,55	16,1	7,80
2,7	1,22	7,2	3,35	11,7	5,60	16,2	7,85
2,8	1,27	7,3	3,40	11,8	5,65	16,3	7,90
2,9	1,31	7,4	3,45	11,9	5,70	16,4	7,95
3,0	1,36	7,5	3,50	12,0	5,75	16,5	8,00
3,1	1,40	7,6	3,55	12,1	5,80	16,6	8,05
3,2	1,45	7,7	3,60	12,2	5,85	16,7	8,10
3,3	1,50	7,8	3,65	12,3	5,90	16,8	8,15
3,4	1,54	7,9	3,70	12,4	5,95	16,9	8,20
3,5	1,59	8,0	3,75	12,5	6,00	17,0	8,25
3,6	1,63	8,1	3,80	12,6	6,05	17,1	8,30
3,7	1,68	8,2	3,85	12,7	6,10	17,2	8,35
3,8	1,72	8,3	3,90	12,8	6,15	17,3	8,40
3,9	1,77	8,4	3,95	12,9	6,20	17,4	8,45
4,0	1,81	8,5	4,00	13,0	6,25	17,5	8,50
4,1	1,83	8,6	4,05	13,1	6,30	17,6	8,55
4,2	1,90	8,7	4,10	13,2	6,35	17,7	8,60
4,3	1,95	8,8	4,15	13,3	6,40	17,8	8,65
4,4	2,00	8,9	4,20	13,4	6,45	17,9	8,70
4,5	2,04	9,0	4,25	13,5	6,50	18,0	8,75
4,6	2,09	9,1	4,30	13,6	6,55	18,1	8,80
4,7	2,13	9,2	4,35	13,7	6,60	18,2	8,85
4,8	2,18	9,3	4,40	13,8	6,65	18,3	8,90
4,9	2,22	9,4	4,45	13,9	6,70	18,4	8,95
5,0	2,27	9,5	4,50	14,0	6,75	18,5	9,00
5,1	2,31	9,6	4,55	14,1	6,80	18,6	9,05
5,2	2,36	9,7	4,60	14,2	6,85	18,7	9,10
5,3	2,40	9,8	4,65	14,3	6,90	18,8	9,15
5,4	2,45	9,9	4,70	14,4	6,95	18,9	9,20
5,5	2,50	10,0	4,75	14,5	7,00	19,0	9,25

Cu	Glucozơ	Cu	Glucozơ	Cu	Glucozơ	Cu	Glucozơ
19,1	9,30	23,7	11,68	28,3	14,00	32,9	16,35
19,2	9,35	23,8	11,73	28,4	14,05	33,0	16,40
19,3	9,40	23,9	11,78	28,5	14,10	33,1	16,45
19,4	9,45	24,0	11,84	28,6	14,15	33,2	16,50
19,5	9,50	23,1	11,89	28,7	14,21	33,3	16,55
19,6	9,55	24,2	11,94	28,8	14,26	33,4	16,60
19,7	9,60	24,3	12,0	28,9	14,31	33,5	16,65
19,8	9,65	24,4	12,05	29,0	14,36	33,6	16,70
19,9	9,70	24,5	12,10	29,1	14,42	33,7	16,75
20,0	9,75	24,6	12,15	29,2	14,47	33,8	16,80
20,1	9,80	24,7	12,20	29,3	14,52	33,9	16,85
20,2	9,85	24,8	12,25	29,4	14,57	34,0	16,90
20,3	9,90	24,9	12,30	29,5	14,63	34,1	16,95
20,4	10,00	25,0	12,35	29,6	14,68	34,2	17,00
20,5	10,05	25,1	12,40	29,7	14,73	34,3	17,05
20,6	10,10	25,2	12,45	29,8	14,78	34,4	17,10
20,7	10,15	25,3	12,50	29,9	14,84	34,5	17,15
20,8	10,20	25,4	12,55	30,0	14,89	34,6	17,20
20,9	10,25	25,5	12,60	30,1	14,94	34,7	17,25
21,0	10,30	25,6	12,65	30,2	15,00	34,8	17,30
21,1	10,35	25,7	12,70	30,3	15,05	34,9	17,35
21,2	10,40	25,8	12,75	30,4	15,10	35,0	17,40
21,3	10,45	25,9	12,80	30,5	15,15	35,1	17,45
21,4	10,50	26,0	12,85	30,6	15,20	35,2	17,50
21,5	10,55	26,1	12,90	30,7	15,25	35,3	17,55
21,6	10,60	26,2	12,95	30,8	15,30	35,4	17,60
21,7	10,65	26,3	13,00	30,9	15,35	35,5	17,65
21,8	10,70	26,4	13,05	31,0	15,40	35,6	17,70
21,9	10,75	26,5	13,10	31,1	15,45	35,7	17,75
22,0	10,80	26,6	13,15	31,2	15,50	35,8	17,80
22,1	10,85	26,7	13,20	31,3	15,55	35,9	17,85
22,2	10,90	26,8	13,25	31,4	15,60	36,0	17,90
22,3	10,95	26,9	13,30	31,5	15,65	36,1	17,95
22,4	11,00	27,0	13,35	31,6	15,70	36,2	18,00
22,5	11,05	27,1	13,40	31,7	15,75	36,3	18,05
22,6	11,10	27,2	13,45	31,8	15,80	36,4	18,10
22,7	11,15	27,3	13,50	31,9	15,85	36,5	18,15
22,8	11,21	27,4	13,55	32,0	15,90	36,6	18,21
22,9	11,26	27,5	13,60	32,1	15,95	36,7	18,26
23,0	11,31	27,6	13,65	32,2	16,00	36,8	18,31
23,1	11,36	27,7	13,70	32,3	16,05	36,9	18,36
23,2	11,42	27,8	13,75	32,4	16,10	37,0	18,42
23,3	11,47	27,9	13,80	32,5	16,15	37,1	18,47
23,4	11,52	28,0	13,85	32,6	16,20	37,2	18,52
23,5	11,57	28,1	13,90	32,7	16,25	37,3	18,57
23,6	11,63	28,2	13,95	32,8	16,30	37,4	18,63

Cu	Glucozơ	Cu	Glucozơ	Cu	Glucozơ	Cu	Glucozơ
37,5	18,68	42,0	21,0	46,5	23,36	51,0	25,73
37,6	18,73	42,1	21,05	46,6	23,42	51,1	25,78
37,7	18,78	42,2	21,10	46,7	23,47	51,2	25,84
37,8	18,84	42,3	21,15	46,8	23,52	51,3	25,89
37,9	18,89	42,4	21,21	46,9	23,57	51,4	25,94
38,0	18,94	42,5	21,26	47,0	23,63	51,5	26,00
38,1	19,00	42,6	21,31	47,1	23,68	51,6	26,05
38,2	19,05	42,7	21,36	47,2	23,73	51,7	26,10
38,3	19,10	42,8	21,42	47,3	23,78	51,8	26,15
38,4	19,15	42,9	21,47	47,4	23,84	51,9	26,21
39,5	19,20	43,0	21,52	47,5	23,89	52,0	26,26
38,6	19,25	43,1	21,57	47,6	23,94	52,1	26,31
38,7	19,30	43,2	21,63	47,7	24,00	52,2	26,36
38,8	19,35	43,3	21,68	47,8	23,05	52,3	26,42
38,9	19,40	43,4	21,73	47,9	20,10	52,4	26,47
39,0	19,45	43,5	21,78	48,0	24,15	52,5	26,52
39,1	19,50	43,6	21,84	48,1	24,21	52,6	26,57
19,2	19,55	43,7	21,89	48,2	24,26	52,7	26,63
39,3	19,60	43,8	21,94	48,3	24,31	52,8	26,68
39,4	19,65	43,9	22,00	48,4	24,36	52,9	26,73
39,5	19,70	44,0	22,05	48,5	24,42	53,0	26,78
39,6	19,75	44,1	22,10	48,6	24,47	53,1	26,84
39,7	19,80	44,2	22,15	48,7	24,54	53,2	26,89
39,8	19,85	44,3	22,21	48,8	24,57	53,3	26,94
39,9	19,90	44,4	22,26	48,9	24,63	53,4	27,00
40,0	19,95	44,5	22,31	49,0	24,68	53,5	27,05
40,1	20,00	44,6	22,36	49,1	24,37	53,6	27,10
40,2	10,05	44,7	22,42	49,2	24,78	53,7	27,15
40,3	20,10	44,8	22,47	49,3	24,84	53,8	27,21
40,4	20,15	44,9	22,52	49,4	24,89	53,9	27,26
40,5	20,21	45,0	22,57	49,5	24,94	54,0	27,31
40,6	20,26	45,1	22,63	49,6	25,00	54,1	27,36
40,7	20,31	45,2	22,68	49,7	25,05	54,2	27,42
40,8	20,36	45,3	22,73	49,8	25,10	54,3	27,47
40,9	20,42	45,5	22,78	49,9	25,16	54,4	27,52
41,0	20,47	45,5	22,84	50,0	25,21	54,5	27,57
41,1	20,52	45,6	22,89	50,1	25,26	54,6	27,63
41,2	20,57	45,7	22,94	50,2	25,31	54,7	27,68
41,3	20,63	45,8	23,00	50,3	25,36	54,8	27,73
41,4	20,68	45,9	23,05	50,4	25,42	54,9	27,78
41,5	20,73	46,0	23,10	50,5	25,47	55,0	27,84
41,6	20,78	46,1	23,15	50,6	25,52	55,1	27,89
41,7	20,84	46,2	23,21	50,7	25,57	55,2	27,94
41,8	20,89	46,3	23,26	50,8	25,63	55,3	29,00
41,9	20,94	46,4	23,31	50,9	25,68		

10. Quan hệ giữa độ dẫn điện và muối hòa tan trong nước tự nhiên chứa chủ yếu các muối bicacbonat, sunphat canxi và magie. Xây dựng trên cơ sở quan hệ 1000 micromhos =0,70g muối/lit.

Độ dẫn điện (micromhos) ở 25°C	Muối hòa tan (g/lít)	Độ dẫn điện (micromhos) ở 25°C	Muối hòa tan (g/lít)
10 - 20	0.01	510 - 520	0.36
25 - 35	0.02	525 - 535	0.37
40 - 45	0.03	540 - 550	0.38
50 - 60	0.04	555 - 560	0.39
65 - 75	0.05	565 - 575	0.40
80 - 90	0.06	580 - 590	0.41
95 - 105	0.07	595 - 605	0.42
110 - 120	0.08	610 - 620	0.43
125 - 135	0.09	625 - 635	0.44
140 - 150	0.10	640 - 645	0.45
155 - 160	0.11	650 - 660	0.46
165 - 175	0.12	665 - 675	0.47
180 - 190	0.13	680 - 690	0.48
195 - 205	0.14	695 - 705	0.49
210 - 220	0.15	710 - 720	0.50
225 - 235	0.16	725 - 735	0.51
240 - 245	0.17	740 - 750	0.52
250 - 260	0.18	755 - 760	0.53
265 - 275	0.19	765 - 775	0.54
280 - 290	0.20	780 - 790	0.55
295 - 305	0.21	795 - 805	0.56
310 - 320	0.22	810 - 820	0.57
325 - 335	0.23	825 - 835	0.58
340 - 350	0.24	840 - 845	0.59
355 - 360	0.25	850 - 860	0.60
365 - 375	0.26	865 - 875	0.61
380 - 390	0.27	880 - 890	0.62
395 - 405	0.28	895 - 905	0.63
410 - 420	0.29	910 - 920	0.64
425 - 435	0.30	925 - 935	0.65
440 - 445	0.31	940 - 950	0.66
450 - 460	0.32	955 - 960	0.67
465 - 475	0.33	965 - 975	0.68
480 - 490	0.34	980 - 990	0.69
495 - 505	0.35	995 - 1005	0.70

Độ dẫn điện (micromhos) ở 25°C	Muối hòa tan (g/lít)	Độ dẫn điện (micromhos) ở 25°C	Muối hòa tan (g/lít)
10 - 20	0.01	510 - 520	0.31
25 - 40	0.02	525 - 540	0.32
45 - 55	0.03	545 - 555	0.33
60 - 75	0.04	560 - 575	0.34
80 - 90	0.05	580 - 590	0.35
90 - 105	0.06	595 - 605	0.36
110 - 120	0.07	610 - 620	0.37
125 - 140	0.08	625 - 640	0.38
145 - 155	0.09	645 - 655	0.39
160 - 175	0.10	660 - 675	0.40
180 - 190	0.11	680 - 690	0.41
195 - 205	0.12	695 - 705	0.42
210 - 220	0.13	710 - 720	0.43
225 - 240	0.14	725 - 740	0.44
245 - 255	0.15	745 - 755	0.45
260 - 275	0.16	760 - 775	0.46
280 - 290	0.17	780 - 790	0.47
295 - 305	0.18	795 - 805	0.48
310 - 320	0.19	810 - 820	0.49
325 - 340	0.20	825 - 840	0.50
345 - 355	0.21	845 - 855	0.51
360 - 375	0.22	860 - 875	0.52
380 - 390	0.23	880 - 890	0.53
395 - 405	0.24	895 - 905	0.54
410 - 420	0.25	910 - 920	0.55
425 - 440	0.26	925 - 940	0.56
445 - 455	0.27	945 - 955	0.57
460 - 475	0.28	960 - 975	0.58
480 - 490	0.29	980 - 990	0.59
405 - 505	0.30	995 - 1005	0.60

11. Hệ số chuyển độ dẫn điện ở các nhiệt độ khác nhau về 25°C

Nhiệt độ	Hệ số	Nhiệt độ	Hệ số	Nhiệt độ	Hệ số	Nhiệt độ	Hệ số
16	1,22	21	1,09	26	0,98	31	0,89
17	1,19	22	1,06	27	0,96	32	0,87
18	1,16	23	1,04	28	0,94	33	0,86
19	1,14	24	1,02	29	0,93	34	0,84
20	1,11	25	1,00	30	0,91	35	0,83

12. Pha các dung dịch có nồng độ đương lượng khác nhau

Hóa chất	Đương lượng	1N	0,5N	0,2N	0,1N	0,05N	0,02N	0,01N	Theo
H_2SO_4 (d = 1,84)	49,04	28,0	14,0	5,6	2,8	1,4	0,56	0,28	ml
HCl (d = 1,19)	36,46	82,0	41,0	16,4	8,2	4,1	1,64	0,82	ml
$H_2C_2O_4.2H_2O$	63,04	-	-	-	6,3	3,15	1,26	0,63	g
$KMnO_4$	31,61	-	-	-	3,16	1,58	0,63	0,32	g
NaOH	40,00	40,0	20,0	8,0	4,0	2,0	0,80	0,40	g
KOH	56,11	56,1	28,0	11,2	5,6	2,8	1,12	0,56	g
$AgNO_3$	169,89	-	-	-	17,0	8,5	3,4	1,7	g
$Na_2S_2O_3.5H_2O$	248,21	-	-	-	24,8	12,4	5,0	2,5	g
Muối Mohr*	392,16	-	-	78,4	39,2	19,6	7,84	3,92	g
$K_2Cr_2O_7$	49,04	-	-	9,81	4,90	2,45	0,98	0,49	g
Trilon B**	186,12	-	-	-	18,61	9,306	3,722	1,861	g

* Muối Mohr = Sunfat amon – sắt hai = $FeSO_4.(NH_4)_2SO_4.6H_2O$

** Trilon B = Axit etilen điamin têtraaxetic đinatri = $Na_2H_2(CH_2COO)_4N_2(CH_2)_2.H_2O$ = Complexon III = Chelaton 3 = 372.242.

Ở đây coi đương lượng trilon B = $\frac{M}{2}$.

13. Khối lượng nguyên tử một số nguyên tố hóa học

Nguyên tố	Kí hiệu	Khối lượng nguyên tử	Nguyên tố	Kí hiệu	Khối lượng nguyên tử
Bạc	Ag	107,880	Magie	Mg	21,320
Nhôm	Al	26,980	Mangan	Mn	51,910
Asen	As	74,910	Molipđen	Mo	95,950
Vàng	Au	197,000	Nitơ	N	11,008
Bo	B	10,820	Natri	Na	22,991
Bari	Ba	137,360	Niken	Ni	58,710
Bitmut	Bi	209,000	Oxi	O	16,000
Brom	Br	79,916	Photpho	P	30,975
Cacbon	C	12,011	Chì	Pb	207,210
Canxi	Ca	40,080	Bạch kim	Pt	195,090
Cađimi	Cd	112,410	Lưu huỳnh	S	32,066
Clo	Cl	35,457	Antimon	Sb	121,760
Coban	Co	58,940	Selen	Se	78,960
Crom	Cr	52,010	Silic	Si	28,090
Cesi	Cs	132,910	Thiếc	Sn	118,700
Đồng	Cu	63,510	Stronti	Sr	87,630
Flo	F	19,000	Titan	Ti	47,900
Sắt	Fe	55,850	Uran	U	238,070
Hiđro	H	1,008	Vanađi	V	50,950
Thủy ngân	Hg	200,610	Vonfam	W	183,860
Iot	I	126,910	Kẽm	Zn	65,38
Kali	K	39,100			

14. Chuyển giá trị $pC_{NO_3^-}$ thành lượng nitrat trong mẫu phân tích

$pC_{NO_3^-}$	Phần trăm của $pC_{NO_3^-}$									
	00	01	02	03	04	05	06	07	08	09
Lượng NO_3^- (mg/kg) - Với lượng nước 80 - 90%										
1,6	9188	8979	8775	8575	8383	8189	8003	7821	7643	7469
1,7	7299	7133	6970	6812	6656	6505	6357	6212	6071	5933
1,8	5798	5666	5537	5411	5287	5167	5049	4935	4822	4712
1,9	6405	4500	4398	4298	4200	4104	4011	3920	3830	3743
2,0	3658	3575	3493	3414	3336	3260	3186	3113	3043	2973
2,1	2906	2840	2775	2712	2650	2590	2531	2474	2417	2362
2,2	2308	2256	2204	2154	2105	2057	2010	1964	1920	1876
2,3	1833	1792	1751	1711	1672	1634	1597	1560	1525	1490
2,4	1456	1423	1391	1359	1328	1298	1268	1239	1211	1184
2,5	1157	1130	1105	1180	1055	1031	1007	985	962	940
2,6	919	898	877	858	838	819	800	782	764	747
2,7	730	713	697	681	666	650	636	621	607	593
2,8	580	567	544	541	529	517	505	493	482	471
2,9	461	450	440	430	420	410	401	392	383	374
3,0	366	387	349	341	334	326	319	311	304	297
3,1	291	284	277	271	265	259	253	247	242	236
3,2	231	226	220	215	210	206	201	196	192	188
3,3	183	179	170	171	167	163	160	156	152	149
3,4	146	142	139	136	137	130	127	124	121	118
3,5	116	113	110	108	105	103	101	98,0	96,0	94
3,6	91,9	89,8	87,7	85,8	83,8	81,9	80,0	78,2	76,4	74,7
3,7	73	71,3	69,7	68,1	66,6	65,0	63,6	61,1	60,7	59,3
3,8	58	56,7	55,4	54,1	52,9	53,7	50,5	49,3	48,2	47,1
3,9	46,1	45,0	44,0	43,0	42,0	41,0	40,1	39,3	38,3	37,4
4,0	36,6	35,7	34,9	34,1	33,4	32,6	30,9	31,1	30,4	29,7
Lượng NO_3^- (mg/kg) - Với lượng nước 70 - 80%										
1,6	9033	8827	8626	8430	8238	8050	7867	7688	7513	7342
1,7	7175	7012	6852	6696	6544	6395	6249	6107	5968	5832
1,8	5699	5570	5443	5319	5198	5079	4964	4851	4740	4633
1,9	4527	4424	4323	4225	4129	4035	3943	3853	3665	3680
2,0	3596	3514	3434	3356	3280	3205	3132	3061	2991	2923
2,1	2856	2791	2728	2666	2605	2546	2488	2431	2376	2322
2,2	2269	2217	2167	2117	2069	2022	1976	1931	1887	1844
2,3	1802	1761	1721	1682	1644	1606	1570	1534	1499	1465
2,4	1432	1399	1367	1366	1306	1276	1247	1218	1191	1164
2,5	1137	1111	1086	1061	1037	1013	990	968	946	924
2,6	903	883	863	843	824	805	787	769	751	734
2,7	717	701	685	670	654	639	625	611	597	583
2,8	570	557	544	532	520	508	495	485	474	463
2,9	453	442	432	422	413	403	394	385	377	368
3,0	360	351	343	336	328	320	313	306	299	292
3,1	286	279	273	267	261	255	249	243	238	232
3,2	227	222	217	212	207	202	198	193	189	184
3,3	180	176	172	168	164	161	157	153	150	146
3,4	143	140	137	134	131	128	125	122	119	116
3,5	114	111	109	106	104	101	99	97	95	92
3,6	90,3	88,7	86,3	84,3	82,4	80,5	78,7	76,9	75,1	74,4
3,7	71,7	70,1	68,5	67,0	65,4	63,9	62,5	61,1	59,7	58,3
3,8	57,0	55,7	54,4	53,2	52,0	50,8	49,6	48,5	47,4	46,3
3,9	45,3	44,2	43,2	42,2	41,3	40,3	39,4	38,5	37,7	36,8
4,0	36,0	35,1	34,3	33,6	32,8	32,0	31,3	30,6	29,9	29,2

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1 - Lê Đức (dịch), 1979 - Nguyên tố vi lượng trong trồng trọt, tập 2. Nhà xuất bản Khoa học và kĩ thuật.

2 - Hoàng Văn Huây, Lê Văn Khoa, Hoàng Văn Thế, 1969 - Phương pháp phân tích hóa học đất, Giáo trình trường Đại học Tổng hợp Hà Nội.

3 - Lê Văn Khoa, 1995 - Môi trường và ô nhiễm. Nhà xuất bản Giáo dục.

4 - Từ Vọng Nghi, Huỳnh Văn Trung, Trần tử Hiếu, 1986 - Phân tích nước. Nhà xuất bản Khoa học và kĩ thuật.

5 - Lê Văn Tiếm, Trần Công Tấu, 1983 - Phân tích đất và cây trồng. Nhà xuất bản Nông nghiệp.

6 - Nguyễn Vy, Trần Khải, 1978 - Nghiên cứu hóa học đất miền Bắc Việt Nam. Nhà xuất bản Nông nghiệp.

7 - Arinuskina E.V. 1970 - Hướng dẫn phân tích hóa học đất. Nhà xuất bản trường Đại học Tổng hợp Matxcơva (bản tiếng Nga).

8 - Grindel N.M. 1982 - Các phương pháp trắc quang phân tích đất. Nhà xuất bản trường Đại học Tổng hợp Matxcơva (bản tiếng Nga).

9 - Grutsco Ia.M. 1979 - Các hợp chất vô cơ có hại trong nước thải công nghiệp. Nhà xuất bản Hóa học Leningrat (bản tiếng Nga).

10 - Minheeva V.G. 1989 - Thực tập nông hóa học. Nhà xuất bản trường Đại học Tổng hợp Matxcơva (bản tiếng Nga).

11 - Vorobieva L.A. 1978 - Bài giảng phân tích đất. Nhà xuất bản trường Đại học Tổng hợp Matxcơva (bản tiếng Nga).

12 - Xmirnov P.M., Muravin Ie.A. 1981 - Nông hóa học. Nhà xuất bản Bông lúa Matxcơva (bản tiếng Nga).

13 - Zurin N.G. 1979 - Hàm lượng và các dạng các nguyên tố vi lượng trong đất. Nhà xuất bản trường đại học Tổng hợp Matxcơva (bản tiếng Nga).

14 - Begheijn L.Th. 1980 - Methods of chemical analyses for soil and waters, Wageningen.

15 - B. van Lagen, 1993 - Manual for chemical soil analyses, Wageningen.

16 - G.R. Chhatwal, M.C. Mehra, T. Katyal, M.Satake, Mohan Katyal, T. Nagahiro, 1989 - Environmental analysis (Air, water and soil) Anmol Publications. New Dehli.

17 - J.C. Katyal et N.S.Randhawa, 1986 - Les oligo - éléments. Bulletin FAO Engrais et nutrition Végétable.

18 - Hobart H. Willard, Lynne L. Merritt, Jr., John A. Dean, Frank A. Settle, Jr.- Instrumental methods of analysis. Wadsworth Publish - ing Company. Belmont, California.

19 - Paul L.G. Vlek, 1985 - Micronutrients in Tropical Food Crop Production. Martinus Nijhoff / DR. W. Junk Publishers.

20 - Procedures for soil analysis ISRIC, 1986. Wageningen, The Netherland.

21 - Roger N.Reeve, 1994 - Environmental analysis. John Wiley Sons Ltd

22 - Standard methods for the examination of water and wastewater. Fifteenth Edition. American Public Health association 1981

23 - Standard methods of analysis for Soil, Plant Tissue, Water and Fertilizer, Philippin, 1980.

24 - Yagodin B.A., 1982 - Agricultural Chemistry. Mir Publishers, Moscow.

MỤC LỤC

Trang

Chịu trách nhiệm xuất bản:

Giám đốc NGÔ TRẦN ÁI
Tổng biên tập VŨ DƯƠNG THỤY

Biên tập lần đầu :
TRẦN THỊ PHƯƠNG

Biên tập tái bản :
TRỊNH NGUYÊN GIAO

Biên tập mĩ thuật :
NGUYỄN TIẾN DŨNG

Trình bày bìa :
LƯU CHÍ ĐỒNG

Sửa bản in :
TRỊNH NGUYÊN GIAO

Sắp chữ :
PHÒNG CHẾ BẢN (NXB GIÁO DỤC)

PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH ĐẤT, NƯỚC, PHÂN BÓN, CÂY TRỒNG

In 1.000 cuốn, khổ 19x27 cm, tại Công ty In Công Đoàn Việt Nam 169 Tây Sơn, Đống Đa, Hà Nội.
Giấy phép xuất bản số: 1536/561-01. In xong và nộp lưu chiểu tháng 4 năm 2001.



Giá: 28.000đ